COLUMBIA LIBRARIES OFFSITE
HEALTH SCIENCES STANDARD
HX64100561
QP91 .Sch52 Weitere Beitrage zur
RECAP

COLUMBIA UNIVERSITY
DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY
THE JOHN G. CURTIS LIBRARY

Digitized by the Internet Archive
in 2010 with funding from
Open Knowledge Commons (for the Medical Heritage Library project)

http://www.archive.org/details/weiterebeitrge00schm

WEITERE

BEITRÄGE ZUR BLUTLEHRE.

WEITERE

BEITRÄGE ZUR BLUTLEHRE.

Von

Dr. ALEXANDER SCHMIDT,

PROFESSOR ORD. DER PHYSIOLOGIE AN DER KAISERL. UNIVERSITÄT DORPAT.

NACH DES VERFASSERS TODE HERAUSGEGEBEN.

INHALT:

I. Ueber den kolloidalen Faserstoff.
II. Ueber die Abspaltung des Thrombins von seiner unwirksamen Vorstufe (Prothrombin) und die Beeinflussung dieses Vorganges durch die Neutralsalze der Alkalien und Erdalkalien.
III. Ueber die angebliche specifische Bedeutung der Kalksalze für die Faserstoffgerinnung.
IV. Ueber die Abhängigkeit der Mengen des Faserstoffes von gewissen äusseren die Gerinnung beeinflussenden Einwirkungen.
V. Zur Kenntniss des Protoplasmas und seiner Derivate.

WIESBADEN.

VERLAG VON J. F. BERGMANN.

1895.

2P91
Sch52

Alle Rechte vorbehalten.

Druck von Carl Ritter in Wiesbaden.

Die vorliegende Arbeit ist zum allergrössten Theil in den Sommermonaten des Jahres 1893 entstanden. Im August erkrankte der Verfasser, um nicht wieder zu genesen. Doch revidirte er im December zu einer Zeit scheinbarer Besserung das Manuscript und schrieb den letzten Abschnitt. In seiner Absicht lag es, dem übrigens völlig abgeschlossenen Ganzen noch ein Kapitel über die Gerinnungstheorie von Woolridge hinzuzufügen. Dies war der Grund, dass die Herausgabe sich verzögerte, bis eine plötzliche Verschlimmerung seines Zustandes jedes weitere Arbeiten unmöglich machte.

Dem Herrn Professor Dr. Karl Dehio und dem Herrn Dr. R. von Wistinghausen, die die Herausgabe dieses Werkes mit Rath und That unterstützt haben, sagen die Hinterbliebenen des Verfassers ihren wärmsten Dank.

Einleitende Bemerkungen

von

Prof. Dr. **Karl Dehio.**

Nachdem Alexander Schmidt in seinem Werk „Zur Blutlehre“ (Leipzig, Verlag von F. C. W. Vogel, 1892) die Summe seiner zwanzigjährigen Arbeiten zusammenfassend dargestellt und der wissenschaftlichen Welt unterbreitet hatte, drängte es ihn, die verschlungenen Wege seiner Forschung nochmals rückschauend zu überblicken und durch ergänzende Untersuchungen neues Material herbeizuschaffen, um die schwierigsten Parthien seinen Lesern möglichst zu ebnen und gangbar zu machen.

Hierbei bot sich ihm die willkommene Gelegenheit, sich auch mit den Einwänden, die andere Forscher gegen seine Lehre erhoben hatten, auseinanderzusetzen. Insbesondere hat er sich in ebenso eingehender als sachgemässer Weise mit den Arbeiten und Ansichten Hammarsten's, Pekelharing's, Arthus' und Pagès' beschäftigt.

So entstand das vorliegende Werk, das Schmidt als Fortsetzung und Ergänzung seines ersten Buches betrachtete und an dessen Vollendung er die letzten Kräfte seines Lebens gesetzt hat. Ist es ihm gleich nicht vergönnt gewesen, Alles auszusprechen, was er noch zu sagen hatte, so wird doch kein Leser leugnen wollen, dass das Buch auch so, wie es jetzt ist, ein abgeschlossenes Ganzes bildet. Als ein besonderes Glück erscheint es mir, dass die Feder der Hand des Forschers erst entfiel, nachdem das V. Kapitel

abgeschlossen war. In diesem Abschnitt leuchtet zum letzten Mal der reiche Geist des Entschlafenen auf und lässt uns die weiten Ausblicke erkennen, die durch seine Forschungen für die Physiologie des Blutes gewonnen sind.

Da nicht Jedem der complicirte Bau der Schmidt'schen Blutlehre gegenwärtig sein kann, und auch nicht von Jedem verlangt werden kann, dass er, um das vorliegende Werk voll zu erfassen, vorher die erste Arbeit: „Zur Blutlehre" neu durcharbeite, so schicke ich diesem Buch eine kurze Darstellung der Schmidt'schen Blutlehre voran, die Alles das in Kürze enthält, was zum Verständniss der folgenden Kapitel nöthig ist. Ich entnehme sie wörtlich einem Referat über das Schmidt'sche Werk „Zur Blutlehre", das ich im Jahre 1893 in der Petersburger medicinischen Wochenschrift veröffentlichte. Ich halte mich hierzu für umsomehr berechtigt, als ich das Referat vor seiner ersten Veröffentlichung Al. Schmidt vorgelegt habe, und er dasselbe Wort für Wort gebilligt hat. — Das Folgende darf daher ungefähr die Zuverlässigkeit eines Autorreferates des Verfassers beanspruchen:

Die Schmidt'schen Untersuchungen gehen von der Thatsache der Faserstoffgerinnung des Blutes aus. Durch Schmidt wissen wir, dass in einer Flüssigkeit die Faserstoffgerinnung stattfindet, sobald sie Folgendes enthält: 1) eine gelöste Eiweissform oder Globulin (fibrinogene Substanz) als Material, aus welchem der Faserstoff entsteht, 2) ein specifisches Ferment (Thrombin) als Mittel zur Umwandlung dieses Materials in einen in der Mutterflüssigkeit löslichen Eiweisskörper (flüssigen Faserstoff), zu dessen Eigenschaften es gehört, durch Neutralsalze aus der löslichen in eine unlösliche Modification übergeführt zu werden, und 3) eine gewisse Menge von Salzen als Mittel, um die eben erwähnte Ueberführung des fermentativen Umwandlungsproductes in die unlösliche Modification (geronnenen Faserstoff) und damit seine Ausscheidung zu bewirken.

Diese Thatsachen sind schon lange bekannt und in alle Lehrbücher der Physiologie übergegangen. Schmidt sucht nun die Frage zu beantworten, woher das Ferment und woher die fibrinogene Substanz stammen.

In Bezug auf das Ferment hat er festgestellt, dass dasselbe im Plasma des aus dem Gefässsystem entleerten Blutes aus einem im Plasma vorhandenen, an sich unwirksamen Mutterstoff abgespalten wird. Wie und durch welche Kräfte und Stoffe wird nun aber diese Abspaltung bewirkt? Das ist die schwierige Frage, deren Lösung einen gewaltigen Aufwand von Scharfsinn und Arbeit gekostet hat. Wenn man in nicht geronnenes Blutplasma (spec. Pferdeblutplasma, dessen Gewinnung Schmidt uns gelehrt hat) Zellprotoplasma (Lymphzellen, Leukocyten, Leber- und Milzzellen, hämoglobinfreie Stromata rother Blutkörperchen etc.) hineinbringt, so bildet sich im Blutplasma das Fibrinferment; und da die übrigen Voraussetzungen zur Gerinnung, nämlich die Globuline und der nöthige Salzgehalt im Plasma vorhanden sind, so erfolgt rasch die Gerinnung desselben. Das Zellprotoplasma als solches, am intensivsten aber die Lymphzellen und farblosen Blutkörperchen, haben also die Fähigkeit, die Abspaltung des Fibrinfermentes aus seiner Muttersubstanz zu bewirken.

Wenn nun Lymph- oder sonstige Körperzellen mit Alkohol extrahirt werden, so gelingt es, aus denselben Stoffe abzutrennen und rein zu gewinnen, die ganz ebenso die Gerinnung des Blutplasmas bewirken, wie die Zellen selbst. Die mit Alkohol extrahirten Zellen aber haben nunmehr ihre coagulirende Wirkung auf das Blutplasma verloren. Das alkoholische Zellenextract hat also aus den Zellen diejenigen Stoffe aufgenommen, auf die es bei der Gerinnung ankommt; wenn wir die im Blutplasma und folglich auch im Blut vorhandene Muttersubstanz des Fibrinfermentes als die Gebärerin des letzteren bezeichnen können, so lassen sich die durch Alkohol extrahirten Zellenbestandtheile als die Erzeuger des

Fermentes ansehen. Schmidt nennt die letzteren deshalb zymoplastische Substanzen.

Aus dem mit Alkohol extrahirten Zellrest lässt sich aber weiter durch Auslaugung mit Wasser noch eine andere Substanz gewinnen und rein darstellen, die von Schmidt mit dem Namen Cytoglobin belegt worden ist. Dies Cytoglobin wirkt ganz entgegengesetzt den zymoplastischen Substanzen; in's Blutplasma gebracht, vermag es die Faserstoffgerinnung zu verlangsamen, ja sogar vollständig zu unterdrücken. Als Antagonist der zymoplastischen Substanzen hebt das Cytoglobin die Wirkung derselben auf.

Durch Essigsäure lässt sich aus dem Cytoglobin das von Schmidt so genannte Präglobulin abspalten, welches ganz ähnliche gerinnungshemmende Eigenschaften hat, wie das Cytoglobin, aber in seiner chemischen Constitution doch schon ziemlich weit vom Cytoglobin entfernt sein muss, da es die Ebene des polarisirten Lichtes nach links dreht, während das Cytoglobin rechtsdrehend wirkt.

Wenn man Zellenprotoplasma (Lymphzellen etc.) in Blutplasma hineinbringt, so wird vom ersteren die zymoplastische Substanz abgespalten, welche ihrerseits wieder das Fibrinferment frei macht und so die Gerinnung des Plasma bewirkt. Das Blutplasma besitzt also die Fähigkeit, spaltend auf das Protoplasma zu wirken — eine Fähigkeit, welche dem Blutserum, der Hydroceleflüssigkeit und allen übrigen Flüssigkeiten des Körpers mangelt. Es ist klar, dass durch die Aufdeckung dieses complicirten Gewebes von Wirkung und Gegenwirkung in der Lehre von der Blutgerinnung ein wichtiger Schritt vorwärts gethan ist.

Wie das isolirte Blutplasma im Reagenzglase, so wirkt nun auch das Plasma des lebenden Blutes im Gefässsystem des thierischen Organismus. Nun gewinnen wir einiges Verständniss für die gleichfalls von Schmidt entdeckten Thatsachen, dass,

wenn man Protoplasma in Form von Lymphzellen, Leukocyten etc., oder zymoplastische Substanz in genügender Menge und Concentration, oder endlich das Fibrinferment selbst Thieren in die Blutbahn injicirt, dieselben rasch, ja momentan an Gerinnung und Thrombenbildung in allen Gefässen des grossen und kleinen Kreislaufes zu Grunde gehen. Durch alle diese Eingriffe wird direct oder indirect der Fermentgehalt des Blutes so stark erhöht, dass Gerinnung eintreten muss.

Es fragt sich nur, warum das Blut, welches doch spontan gerinnt, sobald es aus dem Gefässsystem entleert wird, nicht auch schon innerhalb der Blutbahn der Gerinnung unterliegt. Hier ist auf die Wirkung des Cytoglobin zurückzugreifen. Diese Substanz lässt durch Essigsäure Präglobulin, durch Erhitzen und durch Einwirkung von Alkalien andere eiweissartige Spaltungsproducte entstehen, welche, wie Schmidt zeigt, sämmtlich gerinnungswidrig wirken. Es ist nun der Gedanke wohl nicht zu kühn, dass im Verlauf des normalen Stoffwechsels fortwährend aus dem Zellprotoplasma der Körpergewebe Cytoglobin abgespalten und in den Kreislauf aufgenommen wird, das sich zwar im Blut sofort weiter zersetzt und als solches nicht nachweisbar ist, dessen Zersetzungsproducte aber im Blute kreisen, durch den permanenten Zufluss aus den Körpergeweben stets erneuert werden und durch ihre Anwesenheit die Gerinnung des Blutes intra corpus hemmen und hindern. Im lebenden Blut hält sich so die Wirkung der zymoplastischen Substanzen und des vitalen Fermentgehaltes einerseits, und die Wirkung der die Gerinnung hemmenden Substanzen andererseits das Gleichgewicht. Im Reagenzglase dagegen, wo der permanente Zufluss des Cytoglobins und seiner Derivate aufhört, gewinnen die zymoplastischen Substanzen, nun nicht mehr durch ihre Antagonisten gelähmt, sofort das Uebergewicht und die Möglichkeit, das Fibrinferment freizumachen und somit die Gerinnung des Blutes hervorzurufen.

Hier verlassen wir für einen Augenblick die Lehre von der

Blutgerinnung und folgen dem Verfasser auf einen neuen Weg, der uns überraschende Ausblicke in den Chemismus der lebenden thierischen Zelle eröffnet.

Nachdem vom Zellprotoplasma durch Alkohol die zymoplastischen Substanzen und durch Wasser das Cytoglobin abgetrennt worden, bleibt ein unlöslicher Rest übrig, den Schmidt mit dem Namen Cytin belegt. Sowohl das Cytin wie das Cytoglobin stellen nun hochorganisirte Atomcomplexe dar, welche ihrer Zusammensetzung nach weit über allen bisher bekannten Eiweissstoffen des Thierleibes stehen. Es sind Substrate der lebenden Zellen, denen bisher noch niemand auf die Spur gekommen ist; dass sie mehr sind, als das uns jetzt relativ einfach erscheinende Eiweissmolekül, das beweist uns ihr Entdecker auf's Unzweifelhafteste. Aus dem Cytin lässt sich durch Na_2CO_3 Cytoglobin abspalten. Es muss also das Cytin als das erste Glied der Reihe angesehen werden. Aus dem Cytoglobinmolekül löst sich, wie wir sahen, weiterhin das Präglobulin heraus, und aus diesem entsteht eine weitere Reihe von Zwischenproducten, aus denen sich als greifbares, relativ stabiles Glied das Paraglobulin erfassen lässt. Wenn man nämlich zum Blutserum oder zu nicht gerinnenden Transsudaten (Pericardialflüssigkeit) Cytoglobin oder Präglobulin zusetzt, so wird dasselbe vermöge der spaltenden Kraft der genannten Flüssigkeiten bei alkalischer Reaction in Paraglobulin verwandelt. Es ist sicher, wie Schmidt zeigt, dass dieselbe Fähigkeit, eine solche Umwandlung hervorzurufen, auch dem lebenden Blut und dem Blutplasma zukommt, wenngleich der direckte, experimentelle Beweis hierfür im Blut und Plasma wegen der in ihnen eintretenden Gerinnung extra corpus nicht zu erbringen ist. Es ist ferner sicher, dass gleichsam als erster Act der Gerinnung aus einem Theil des Paraglobulins bei Gegenwart des Fibrinfermentes (Thrombins) die fibrinogene Substanz wird, welche dann schliesslich unter der Wirkung des Fibrinfermentes in die Zwischenstufe des flüssigen Faserstoffes und bei

Gegenwart der nöthigen Salze in die geronnene Modification des festen Faserstoffes übergeführt wird.

Wir überblicken also eine Reihe von Stoffen, von denen einer aus dem andern hervorgeht. Innerhalb des Gefässsystems kommt es freilich nur bis zur Bildung der fibrinogenen Substanz. Was weiter folgt, sind Vorgänge der Gerinnung, die wir nur im absterbenden Blut beobachten. Und welche bedeutsame, vitale Wirkungen sind an die hochorganisirten oberen Glieder dieser Reihe geknüpft! Sie sind es, die dem Blut die Gerinnungstendenz verleihen: sie sind es zugleich, die das lebende Blut dennoch flüssig erhalten. In diesem Verhalten erinnern sie lebhaft an die genetisch zusammengehörigen und gleichfalls durch Wirkung und Gegenwirkung mit einander verknüpften Toxine und Antitoxine, die wir als Producte anderer lebender Zellen, der pathogenen Mikroorganismen, kennen.

Das Fibrinferment, welches Verfasser von nun an mit dem Namen Thrombin belegt, ist auch nach vollendeter Gerinnung im Blutserum vorhanden, sowie es auch vor der Gerinnung im Plasma und im circulirenden Blut, wenngleich in viel geringerer Menge, nachgewiesen werden kann. Es fragt sich nur, wo das Thrombin herstammt und in dieser Beziehung weist Schmidt nach, dass die unwirksame Vorstufe oder Muttersubstanz des Fibrinfermentes, von ihm Prothrombin genannt, in grossen Mengen im Blutplasma und im circulirenden Blut präexistirt und zum grössten Theil und in letzter Linie aus dem Protoplasma der Organzellen und der farblosen Blutkörperchen herstammt. Aus dem Prothrombin wird durch die Wirkung der zymoplastischen Substanzen auch schon im circulirenden Blut das Thrombin abgespalten und dadurch der vitale Gehalt des lebenden Blutes an Thrombin hergestellt. Warum diese Abspaltung in dem aus der Ader entleerten Blut plötzlich zunimmt, haben wir schon oben besprochen.

Zum Schluss kehrt der Verfasser wieder zur Faserstoff-

gerinnung extra corpus zurück. Nach all dem, was bis hierher ausgeführt wurde, lässt sich nun sagen, dass dieselbe in drei aufeinander folgenden Acten besteht und zwar: 1) in der mit erhöhter Intensität sich fortsetzenden Abspaltung des Thrombins vom Prothrombin durch die zymoplastischen Substanzen, 2) in der Wirkung des Thrombins, welches die Spaltung des Paraglobulins und die Ueberführung der aus dieser Spaltung hervorgehenden fibrinogenen Substanz in flüssigen Faserstoff bewirkt, und 3) in der Fällung des letzteren durch die Plasmasalze in unlöslicher Modification.

Es geht aus dem Gesagten hervor, dass die durch den regressiven Stoffwechselprocess „bei dem allmählichen Abbau der Zellen" freiwerdenden und in's Blut gelangenden Stoffe hier noch weiter eine wichtige Rolle spielen und weiteren Spaltungen und Umwandlungen unterliegen, die ausserhalb der Gefässbahn schliesslich zur Blutgerinnung führen, innerhalb des Körpers dagegen mit der Bildung und Ausscheidung der bekannten letzten Stufen der regressiven Metamorphose, des Harnstoffes, etc. ihren Abschluss finden. —

Hier möchte ich noch kurz daran erinnern, was Al. Schmidt über drei von ihm viel benutzte und auch in der vorliegenden Arbeit vielfach erwähnte, künstliche Derivate der Blutflüssigkeit angiebt.

1. Wenn man das durch Aderlass gewonnene Blut vom Pferde rasch unter 0° abkühlt, so senken sich die Blutkörperchen zu Boden und das darüberstehende Plasma lässt sich nun in einem mit einer Kältemischung gefüllten Doppeltrichter klar filtriren. Man erhält so ein völlig zellenfreies Blutplasma, das sich viele Stunden, manchmal einen Tag lang flüssig erhält, ohne zu gerinnen und das als Reagens zur Feststellung der gerinnungserregenden Wirkung von Zellen und Zellenbestandtheilen benutzt werden kann. (Zur Blutlehre p. 7.)

2. Ein anderes aus Pferdeblut darstellbares Präparat zur Prüfung der coagulirenden Wirkungen der Zellen ist das Salzplasma. Es ist ein mit schwefelsaurer Magnesia in bestimmter Concentration versetztes Blutplasma. Diese Flüssigkeit ist der spontanen Gerinnung nicht fähig, denn das Magnesiumsalz unterdrückt hier schon in geringer Concentration die Abspaltung des Thrombins vom Prothrombin, d. h. es verhindert die Wirkung der zymoplastischen Substanz auf das Prothrombin. In stärkerer Concentration verhindert das Mg-Sulfat aber auch die Wirkung des etwa hinzugebrachten freien Thrombins auf das Paraglobulin und die fibrinogene Substanz, d. h. es unterdrückt auch auf diesem zweiten Wege die Gerinnung. Verdünnt man das Salzplasma fortschreitend mit Wasser, so kann man leicht denjenigen Grad des procentischen Gehaltes an Mg-Sulfat erreichen, wo die Widerstandskraft des Salzes gegenüber dem zugesetzten Thrombin aufgehoben ist, aber die spontane Thrombinabspaltung doch noch unterdrückt bleibt. In dieser Verdünnung bleibt das Salzplasma an sich dauernd flüssig, gerinnt aber sogleich, wenn man freies Thrombin in dasselbe hineinbringt. Deshalb ist ein solches verdünntes Salzplasma von Al. Schmidt seit lange als bequemstes Reagens zur Erkennung des Thrombins benutzt worden. (Zur Blutlehre p. 8—10.) Wie durch das Mg-Sulfat, so kann auch durch andere Salze, namentlich auch durch Oxalate in ganz geringer Menge, sowie durch Zusatz von Cytoglobin und Pepton die spontane Gerinnung des Plasmas und anderer gerinnbarer Flüssigkeiten verhindert werden. —

3. Unter natürlichen, proplastischen Flüssigkeiten versteht Al. Schmidt die normalen Transsudate aus den Körperhöhlen des Pferdes (Pleura- und Pericardialflüssigkeit) und die Hydroceleflüssigkeit des Menschen. Diese Flüssigkeiten sind der spontanen Gerinnung absolut unfähig. Sie enthalten fibrinogene Substanz und Spuren von Paraglobulin, sowie die zur Gerinnung nöthigen Salze, sie enthalten aber kein Thrombin, kein Pro-

thrombin, keine zymoplastische Substanz. — Fügt man künstlich Thrombin der proplastischen Flüssigkeit hinzu, so gerinnt sie; dasselbe geschieht auch, wenn man Prothrombin und zymoplastische Substanz zugleich in sie hineinbringt, denn dadurch wird in der Flüssigkeit Thrombin erzeugt, welches die Bildung des Faserstoffes aus der fibrinogenen Substanz bewirkt. (Zur Blutlehre p. 53, 103, 216, 219.) —

Die Handlichkeit des Buches hoffe ich durch die Voranstellung eines detaillirten Inhaltsverzeichnisses erhöht zu haben.

Wenn ich so diesem Buch seinen Weg erleichtert und ein wenig zur allgemeinen Anerkennung der Entdeckungen meines unvergesslichen Lehrers und Freundes beigetragen haben sollte, so wird mir das zur hohen Befriedigung gereichen.

Dorpat, im Februar 1895.

Inhalts-Verzeichniss.

Seite

I. Kapitel. Ueber den kolloidalen Faserstoff . . . . . 1—52

1. Der kolloidale Faserstoff ist die Vorstufe des geronnenen, unlöslich gewordenen Faserstoffes und entsteht unter der Einwirkung eines Fermentes (des Thrombins), aus anders geartetem eiweissartigem Material (der fibrinogenen Substanz) . . . . 1—2

2. Durch Neutralsalze wird der kolloidale Faserstoff in die unlösliche Form übergeführt. Analogie dieses Vorganges mit der durch Salze bewirkbaren Gerinnung anderer Kolloidalsubstanzen, insbesondere der Kieselsäure . . . . . 2—10

3. Die fibrinogene Substanz als Vorstufe des kolloidalen Faserstoffes . . . . . 11—18

   a) Sie ist in der nöthigen Reinheit enthalten in den proplastischen Transsudaten . . . . . 11—13

   b) Die fibrinogene Substanz im Blutplasma . . . . . 13—14

   c) Die Entstehung des kolloidalen Faserstoffes aus der fibrinogenen Substanz durch Thrombinwirkung. Welche Rolle spielen hierbei die Neutralsalze? . . . . . 14—18

4. Unterschiede zwischen der Gerinnung der Kieselsäure und der Faserstoffgerinnung . . . . . 18—46

   a) Gerinnungszeit . . . . . 18—19

   b) Einfluss von Säuren und Alkalien . . . . . 19—21

   c) Der Faserstoffgerinnung gehen Umsetzungen voraus, die erst zur Bildung des Faserstoffes in der Gerinnungsflüssigkeit führen müssen . . . . . 21—25

   d) Gerinnung in der Wärme . . . . . 25—29

   e) Gerinnung in der Kälte . . . . . 29—36

   f) Wirkung der Einengung und der Filtration . . . . . 36—39

   g) Ueber die Verschiedenheit der coagulirenden Kraft verschiedener Salze gegenüber der Kieselsäure und gegenüber dem kolloidalen Faserstoff . . . . . 39—46

5. Vergleichende Beurtheilung der Methode Hammarsten's und der Al. Schmidt's zur Gewinnung der fibrinogenen Substanz 46—52

Seite

II. Kapitel. Ueber die Abspaltung des Thrombins von seiner unwirksamen Vorstufe (Prothrombin) und die Beeinflussung dieses Vorganges durch die Neutralsalze der Alkalien und Erdalkalien . . . 53—90

1. Die Abspaltung des Thrombins vom Prothrombin . . . . . 53—54
2. Die Neutralsalze (z. B. Mg-Sulfat) vermögen in relativ kleinen Mengen die Entstehung des Thrombins zu verhindern; in grösseren Mengen aber unterdrücken sie auch die Wirkung des schon entstandenen Thrombins. Nach beiden Richtungen können die Neutralsalze gerinnungshemmend wirken . . . 54—56
3. Ueber den Grad der gerinnungshemmenden Kraft verschiedener Neutralsalze . . . . . 56—59
4. Nichtsdestoweniger ist ein relativ sehr geringer Salzgehalt der Gerinnungsflüssigkeit zum Zustandekommen der Gerinnung nothwendig; Erklärung und Begründung dieser Thatsache. Die Abspaltung des Thrombins vom Prothrombin erfolgt nur bei Gegenwart von Salzen . . . . . 59—67
   a) Beweis hierfür durch Versuche am verdünnten Pferdeblutplasma . . . . . 67—70
   b) Der normale Salzgehalt der gerinnbaren Körperflüssigkeiten hat eine doppelte Bedeutung für die Gerinnung, indem erstens die Thrombinentwicklung von ihm abhängig ist und indem in zweiter Instanz, nachdem das Ferment gewirkt hat, die Coagulirung des kolloidalen Faserstoffes durch ihn herbeigeführt wird 71
5. Die Gerinnungsgeschwindigkeit ist abhängig vom Salzgehalt der gerinnbaren Flüssigkeit . . . . . 71—80
6. Gegensätzlichkeit der Wirkung des Ms-Sulfates und des Ca-Chlorides . . . . . 80—85
7. Erläuternde Versuche . . . . . 86—90

III. Kapitel. Ueber die angebliche specifische Bedeutung der Kalksalze für die Faserstoffgerinnung . . . 91—142

1. Der Faserstoff ist keine Kalkverbindung. Phosphor- und kalkhaltige Atomencomplexe sind nur als mechanische Einschlüsse im Faserstoff enthalten . . . . . 91—99
2. Auch das Paraglobulin und die fibrinogene Substanz sind keine Kalkverbindungen . . . . . 99—100
3. Widerlegung der Ansicht, dass in Hammarsten's Fibrinogenlösung eine Gerinnung nicht ohne Mitwirkung der Kalksalze zu Stande kommen könne . . . . . 101—109

Seite

4. Widerlegung der Ansichten Pekelharing's. Das Thrombin ist keine Kalkverbindung. Das Pekelharing'sche Nucleo-Albumin enthält als wirksamen Bestandtheil die zymoplastischen Substanzen . . . . . 109—117
5. Kritik der Versuche von Arthus und Pagès über die Bedeutung der Kalksalze für die Gerinnung . . . . . 117—134
6. Die Gegenwart der Kalksalze ebenso wie auch anderer neutraler Erdsalze ermöglicht die Abspaltung des Thrombins vom Prothrombin; darin besteht ihre Bedeutung für den Gerinnungsprocess. Für die Wirkung des Thrombins selbst sowie für die Entstehung des Faserstoffes aus seinen Vorstufen ist sie keine conditio sine qua non (cfr. pag. 59—70) . . . . . 134—142

IV. Kapitel. Ueber die Abhängigkeit der Mengen des Faserstoffes von gewissen äusseren die Gerinnung beeinflussenden Einwirkungen . . . . . 143—200

1. Die Faserstoffmenge hängt ab von der Masse des fibrinliefernden eiweissartigen Materiales, sowie von der Temperatur und dem Gehalt der Flüssigkeit an zymoplastischen Substanzen . . . 143—144
2. Wirkung des künstlichen Defibrinirens auf normales Plasma und solches, dem Cytoglobin, Prä- und Paraglobulin hinzugefügt wurden . . . . . 144—150
3. Beeinflussung der Faserstoffmenge durch Salze, spec. durch NaCl und $CaCl_2$ . . . . . 150—164
   a) Zurechtstellung der früheren Ansichten des Verfassers über die Bedeutung des Paraglobulins (früher sogenannte fibrinoplastische Substanz) für die Faserstoffgerinnung 156—161
4. Obgleich die Anwesenheit von Paraglobulin keine wesentliche Vorbedingung der Faserstoffgerinnung bildet (p. 171), so bewirkt ein Zusatz von Paraglobulin zur gerinnenden Flüssigkeit doch eine Vermehrung der durch die Thrombinwirkung gelieferten Faserstoffmenge . . . . . 164—175
5. Kritik der Ansichten Hammarsten's über die Rolle, die das Paraglobulin bei der Faserstoffgerinnung spielt . . . . . 175—197
6. Die fibrinvermehrende Wirkung des Paraglobulin beruht darauf, dass während der Gerinnung durch das Thrombin die fibrinogene Substanz vom Paraglobulin abgespalten und zugleich in die Form des flüssigen Faserstoffes übergeführt wird . . . 197—200

V. Kapitel. Zur Kenntniss des Protoplasmas und seiner Derivate . . . . . 201—249

1. Einleitende Bemerkungen . . . . . 201—203

Seite

2. Darstellung des Cytoglobins aus dem Zellenprotoplasma . . 203—207
3. Rechtsdrehende Wirkung des Cytoglobins auf den polarisirten Lichtstrahl und Uebergang desselben in das linksdrehende Präglobulin . . . . . 207—209
4. Spaltung des Cytin durch schwache Alkalien . . . . . 209—210
5. Einwirkung von Wasser und Alkalien auf das nicht mit Alkohol behandelte Zellenprotoplasma . . . . . 210—213
6. Einwirkung von Säuren a) auf reines Cytoglobin, b) auf die mit Alkohol behandelten Zellen, c) auf die nicht mit Alkohol behandelten Zellen . . . . . 213—220
7. Vorzüge der Schmidt'schen Methode der Zerlegung des Zellenprotoplasmas . . . . . 220—225
8. Das Cytin und Cytoglobin der Leberzellen enthält einen zuckerbildenden Atomencomplex (Leberglycogen) als integrirenden Bestandtheil . . . . . 225—228
9. Zusammenfassung . . . . . 228—231
10. Die Alkoholextractstoffe der Zellen (zymoplastische Substanzen) 231—234
11. Welche Rolle spielen die Zellen bei der Gerinnung . . . . 234—243
12. Bemerkungen über das Prothrombin . . . . . 243—245
13. Ueber die giftige Wirkung des Cytoglobins und Präglobulins 246—247
14. Anhang: Das Schlangengift ein Cytoglobin 248--249

Erstes Kapitel.

Ueber den kolloidalen Faserstoff.

Es ist eine längst bekannte Thatsache, dass die Neutralsalze der Alkalien und alkalischen Erden einen hemmenden, eventuell bis zur vollständigen Unterdrückung sich steigernden Einfluss auf die Faserstoffgerinnung ausüben. Vor nahezu 20 Jahren aber gelang es mir nachzuweisen, dass eben dieselben Salze in relativ kleinen Mengen nothwendige Gerinnungsbedingungen darstellen, ein Befund, durch welchen der natürliche Salzgehalt der gerinnbaren Körperflüssigkeiten eine besondere Bedeutung erhielt. Mich hier auf das Detail jener Untersuchungen einzulassen, würde zu weit führen; ich verweise in dieser Hinsicht auf meine bezüglichen Abhandlungen [1]) und insbesondere auch auf die Arbeiten W. Kieseritzky's [2]).

Das Resultat dieser Untersuchungen lässt sich in wenige Worte zusammenfassen:

Als Vorstufe des geronnenen oder unlöslichen Faserstoffs existiert ein kolloidaler Faserstoff, welcher

[1]) Ueber die Beziehungen der Faserstoffgerinnung zu den körperlichen Elementen des Blutes. Pfl. Arch. Bd. XI. Ueber die Beziehungen des Kochsalzes zu einigen thierischen Fermentationsprocessen. Ebendaselbst Bd. XIII, p. 103—146. Die Lehre von den fermentativen Gerinnungserscheinungen etc. Dorpat, bei E. Mattiesen, 1876, p. 29—32 und 37—46.

[2]) Die Gerinnung des Faserstoffs, Alkalialbuminats und Acidalbumins verglichen mit der Gerinnung der Kieselsäure. Inaug.-Abh. Dorpat 1882.

ebenso wie eine Reihe anderer (organischer sowohl als unorganischer) Kolloidsubstanzen unter der Einwirkung von Krystalloidsubstanzen in die geronnene oder unlösliche Modification übergeht.

Der Faserstoff existiert also, wie auch früher angenommen wurde, in zwei der Substanz nach identischen, dem Aggregatzustande nach verschiedenen Formen, nur dass wir jetzt wissen, dass die lösliche Form nicht im Organismus präexistiert, sondern erst extra corpus unter der Einwirkung eines Ferments aus andersgeartetem eiweissartigem Material gebildet wird, um dann durch die Salze sofort in die unlösliche Form übergeführt zu werden.

In dem unter dem Titel „Zur Blutlehre“ [1]) bereits erschienenen ersten Theil dieser Untersuchungen habe ich den Nachweis geliefert, dass die Faserstoffgerinnung den Schlussakt einer Reihe innerhalb des Organismus ablaufender chemischer Umsetzungen darstellt, durch welche Zellenbestandtheile in Blutbestandtheile verwandelt werden, so zwar, dass aus den letzteren extra corpus, indem mit dem Aufhören der regelmässigen Wechselbeziehungen zwischen Blut und Organismus zugleich die Fermententwickelung stürmisch wird, der Faserstoff, und zwar zunächst der lösliche, entsteht. Trotz der innigen Verkettung dieser chemischen Akte unter einander, durch welche man leicht dazu verleitet werden könnte, bei dem Worte „Faserstoffgerinnung“ sich den ganzen Complex derselben zu denken, darf man streng und seinem ursprünglichen Sinne gemäss mit diesem Worte doch nur den letzten Akt, den der Ueberführung des Faserstoffes aus der löslichen in die unlösliche Modifikation bezeichnen, einen Vorgang sui generis, der nicht zu den chemischen im gewöhnlichen Sinne gezählt werden kann. Streng genommen dürfen wir also auch nicht sagen, dass das Ferment die Blut-

[1]) Al. Schmidt. Zur Blutlehre. Leipzig 1892. F. C. W. Vogel.

gerinnung bewirkt; es erzeugt nur den gerinnbaren Stoff und man kann sich dieses Fermentationsprodukt[1]) in löslicher Gestalt darstellen, ohne dass es gerinnt; die wahren unmittelbaren Ursachen der Faserstoffgerinnung sind die krystalloiden Bestandtheile der betreffenden Körperflüssigkeiten.

In dieser Beschränkung gefasst, ist aber die Frage der Faserstoffgerinnung eigentlich gar keine physiologische mehr; denn sie hängt mit einer sehr allgemeinen Eigenschaft der Materie überhaupt zusammen, deren Aeusserungen wir ebensowohl in der unorganischen wie in der organischen Natur begegnen. Kieselsäure, Thonerdalkali, Eisenoxyd, Wolframsäure, Zinnsäure u. a. m. können in den kolloidalen, gerinnbaren Zustand versetzt werden, ebenso aber, ausser dem präformierten Substrat der Faserstoffbildung nach Aronstein's[2]), Rosenberg's[3]) und meinen Untersuchungen auch das Albumin (im salzfreien resp. salzarmen Zustande durch Einwirkung von Siedhitze oder Alkohol); Kieseritzky[4]) und Rosenberg[5]) zeigten ferner, dass das Alkalialbuminat und Acidalbumin ganz denselben Kolloidalcharakter besitzen. Bei der speciellen Vergleichung dieser Eiweissstoffe mit der Kieselsäure bewährten die Salze ihnen gegenüber so gut wie gegenüber der letzteren ihre coagulierenden Kräfte und es ergab sich, dass es wesentlich dieselben Umstände sind, unter welchen jene Kräfte der Krystalloidsubstanzen mehr oder weniger erlahmen und der faktische Eintritt der Gerinnung mehr oder weniger verzögert resp. ad calendas graecas verschoben wird; namentlich kommt in dieser

[1]) Diesem Ferment, früher vielfach als Fibrinferment bezeichnet, habe ich den Namen Thrombin gegeben.

[2]) B. Aronstein: Ueber die Darstellung salzfreier Albuminlösungen vermittelst der Diffusion. Inaug.-Abh. Dorpat 1873.

[3]) A. Rosenberg: Vergleichende Untersuchungen betreffend das Alkalialbuminat, Acidalbumin und Albumin. Inaug.-Abh. Dorpat 1883, p. 1—19.

[4]) A. a. O. p. 68—88.

[5]) A. a. O. p. 33—39.

Hinsicht der Verdünnungsgrad in Betracht. Von der Physik und Chemie haben wir Aufschluss zu erwarten über die Natur dieser eigenthümlichen Beziehungen zwischen Kolloid- und Krystalloidsubstanzen; so lange er uns nicht geworden ist, müssen wir sie eben als thatsächliche hinnehmen und mit der Einordnung der Faserstoffgerinnung, das Wort im strengen Sinne gefasst, in diese Klasse von Erscheinungen uns zufrieden geben.

Graham unterscheidet zwischen einer durch die Zeit und einer durch die Salze bewirkten Gerinnung der kolloidalen Stoffe und meint damit, dass sie zwar an und für sich die Eigenschaft besitzen zu gerinnen, um so schneller je concentrirter ihre Lösungen sind, dass dieser Vorgang aber durch gewisse andere Stoffe, wie besonders durch die Neutralsalze, beschleunigt werde. Speciell von der Kieselsäure aber giebt er an, dass ihre Gerinnung durch diese Salze nicht beeinflusst werde [1]). Das ist eine offenbar irrthümliche Angabe, die sich durch die Annahme erklären lässt, dass Graham in den bezüglichen Versuchen mit sehr diluierten Kieselsäurelösungen und mit für die gegebenen Verdünnungsgrade zu kleinen Salzzusätzen gearbeitet hat, resp. dass er den Eintritt der Gerinnung nicht lange genug abgewartet hat; denn unter solchen Umständen können allerdings Wochen, Monate und selbst Jahre dahingehen, bevor die Gerinnung sich einstellt. Eine Zeitgrenze für die Kieselsäuregerinnung, bei deren Ueberschreitung man sich das Recht nehmen dürfte, die Salze für unwirksam im Sinne Graham's zu erklären, kann hier nur willkürlich gesetzt werden, weil es eben noch weniger eine bestimmte zeitliche Grenze für den Eintritt der von Graham angenommenen spontanen, d. h. nicht unter Mitwirkung eines Salzzusatzes ablaufenden Gerinnungen der Kieselsäure giebt. Aber auch diese spontane, d. h. als von der Zeit abhängig gedachte Gerinnbarkeit soll nach Graham mit einem gewissen sehr niedrigen Concentrationsgrade

[1]) Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 121, p. 37.

der Kieselsäurelösung aufhören. „Kieselsäurelösung von 10—12 %," sagt er in Bezug auf die spontane Gerinnung, „coaguliert bei gewöhnlicher Temperatur innerhalb einiger Stunden und beim Erhitzen sofort. Eine 5 %ige Kieselsäurelösung lässt sich 5 bis 6 Tage aufbewahren, eine 2 %ige 2 bis 3 Monate, und eine von 1 % ist nach 2 Jahren noch nicht paktös geworden. Verdünnte Lösungen, die nur 0,1 % und noch weniger enthalten, werden ohne Zweifel durch die Zeit nicht verändert und hierauf beruht die Möglichkeit, dass Kieselsäure im gelösten Zustande vorkommen kann" [1]). Von einer gewissen Grenze an wird also nach Graham die spontane Gerinnbarkeit der Kieselsäure durch Verdünnung ganz aufgehoben und da sie innerhalb dieser Grenze sich einstellt und, ohne dass ein Salzzusatz nöthig wäre, mit der Concentration wächst, bis zuletzt in kürzester Zeit die Gerinnung erfolgt, so liegt der Gedanke einer spontanen Gerinnbarkeit, als einer essentiellen Eigenschaft der Kieselsäure, sehr nahe. Indess sieht man zugleich aus eben diesen von Graham angeführten Beispielen, wie die Gerinnungszeiten in ungeheuer beschleunigtem Verhältnisse mit der Verdünnung wachsen und es fragt sich denn doch, wie ungemessene, der praktischen Beobachtung sich entziehende Zeiträume auf Kieselsäurelösungen wirken würden, deren Verdünnung die von Graham annähernd angegebene Grenze (0,1 % Kieselsäuregehalt) überschreitet. Diese Frage betrifft aber nur die Möglichkeit des thatsächlichen Eintritts der Gerinnung in sehr diluierten Kieselsäurelösungen, sie berührt nicht die weitere Frage, ob wirklich die Kieselsäure ganz von selbst, ohne eine äussere materielle Ursache ihren Aggregatzustand zu ändern vermag. Kieritzky constatierte zunächst gegen Graham, dass ein Zusatz von Neutralsalzen (er bediente sich vorzugsweise des NaCl), wenn er für jeden

[1]) Graham: Ueber die Eigenschaften der Kieselsäure und anderer analoger Kolloidsubstanzen. Annalen der Chemie und Pharmacie, Bd. 135, 136. 1865, p. 66, 67.

gegebenen Verdünnungsgrad der Kieselsäurelösung die passende Grösse erreicht, deren Gerinnung, verglichen mit der „spontanen", im allerhöchsten Grade beschleunigt. Auf diese Weise führte er die Gerinnung durch Kochsalzzusatz auch in solchen Lösungen in kürzester Zeit (ca. 2 Stunden) herbei, welche nach Graham „durch die Zeit" gar nicht verändert werden (Lösungen von 0,07 %). Da er nun andrerseits durch ein bedeutend energischeres Verfahren beim Dialysieren seine Lösungen viel vollständiger als Graham von dem bei der Zersetzung des Wasserglases durch concentrierte Salzsäurelösung entstandenen NaCl befreit hatte, so erhielten sie sich, sich selbst überlassen, bei gleicher Concentration mit den Lösungen Graham's, auch viel länger flüssig, als dieser für die seinigen angiebt. Eine Kieselsäurelösung von 5 % z. B. lässt sich nach Graham nur 5—6 Tage aufbewahren, bei Kieseritzky war eine solche Lösung nach nahezu zwei Monaten noch vollkommen flüssig[1]). Hierdurch tritt die coagulierende Wirkung der Krystalloidsubstanzen noch eklatanter hervor, denn eine Kieselsäurelösung von 5 % gerinnt nach einem passenden Salzzusatz in wenigen Augenblicken. Dazu kommt, dass bei gleichmässigem Wachsthum der Concentration der Kieselsäurelösung die zur Herbeiführung ihrer Gerinnung als Optimum erforderliche Salzmenge in hochgradig beschleunigtem Verhältnisse abnimmt, so dass zuletzt geradezu spurenhafte Salzzusätze genügen, um die Gerinnungszeit auf wenige Augenblicke zusammenschrumpfen zu machen. Umgekehrt erfordern die Kieselsäurelösungen bei immer weiter fortgesetzter Verdünnung zu ihrer Gerinnung schliesslich so grosse Salzzusätze, dass eben dadurch Störungen eingeführt werden, welche das Resultat des Versuchs mehr oder weniger für das Auge beeinträchtigen. Ein Mal nämlich wird die Lösung dadurch in Bezug auf ihren Gehalt an Kieselsäure stark verdünnt,

---

[1]) Da Kieseritzky seine Arbeit beschliessen musste, so habe ich die Beobachtung jener Lösung fortgesetzt. Sie gerann erst nach $2^1/_2$ Monaten.

und dann werden die weit auseinandergetriebenen Moleküle der letzteren durch die concentrierte salzige Zwischenflüssigkeit gehindert sich zu sammeln; die Kieselsäure scheidet sich zwar aus, aber nicht als eine zusammenhängende, homogene, den Wänden des Gefässes anhaftende Gallerte, sondern in Form von mehr oder weniger feinen Flocken und Flöckchen. Auch bei concentrierten Kieselsäurelösungen habe ich dieses Resultat eintreten sehen, so z. B. bei Mischungen von 1 Vol. Kieselsäurelösung mit 10 Vol. gesättigter Kochsalzlösung.

Kieseritzky weist ferner auch darauf hin, dass die Coagulierbarkeit durch Salze eine in der Zeit wachsende Eigenschaft der Kieselsäure ist und dass parallel diesem Wachsthum die Opalescenz der Lösung stetig zunimmt; denn bei stets gleichbleibendem Salzzusatz macht es für die Gerinnungszeit einen grossen Unterschied, ob derselbe unmittelbar nach Herausnahme der Kieselsäurelösung aus dem Dialysator stattfindet oder später; je später nämlich desto rascher folgt auf den Salzzusatz die Gerinnung und desto dichter, fester und undurchsichtiger ist das Gerinnsel.

Unter solchen Umständen fragt es sich, ob man das Recht hat, von einer nur von der Zeit abhängigen, im Unterschiede von der durch Salze bewirkten Gerinnung der Kolloidsubstanzen zu reden, ob nicht jedesmal die Salze als ihre Ursachen zu betrachten sind. Die Herstellung der betreffenden Lösungen findet stets unter Salzbildung statt und abgesehen von anderen Gründen, welche für die Annahme, dass die lösliche Kieselsäure ein an und für sich permanent flüssiger Körper ist, zu sprechen scheinen und in Bezug auf welche ich auf seine Arbeit verweisen muss, macht Kieseritzky darauf aufmerksam, dass es ganz unmöglich ist, das neben der freien Kieselsäure bei der Zersetzung des Wasserglases durch Salzsäure in Wasser gebildete NaCl durch Dialyse vollständig zu entfernen, weil, wie ad hoc angestellte Versuche mit Kochsalzlösungen lehrten, der Durchtritt des Salzes in dem Augenblicke stockte, in welchem die durch den Unterschied im Salzgehalt der inneren und

äusseren Flüssigkeit dargestellte osmotische Kraft gleichgeworden war dem Widerstande der Membran. Kieseritzky fand mit Hülfe der mit salpetersaurem Silber angestellten Opalescenzprobe, dass der Salzgehalt der Kochsalzlösung, die er einer 14tägigen Dialyse unterwarf, vom fünften Tage an constant blieb. Die zurückgebliebene Salzmenge war allerdings sehr gering. So lange liess er nun auch die Dialyse seiner Kieselsäurelösungen dauern ($2^1/_2$ Mal so lange als Graham). Ausserdem war die Dicke seiner Flüssigkeitsschichten viermal geringer und der Wasserwechsel fand viel häufiger statt als bei Graham. Aus diesen Gründen liessen sich seine Kieselsäurelösungen auch so viel länger aufbewahren als die Graham's. Wenn es nun aber gilt, die aus dem Dialysator gewonnene diluierte Flüssigkeit durch Einengen im Vacuum in eine concentrierte zu verwandeln [1]), so kommen diese minimalen Salzmengen doch in Betracht; denn hierbei wächst nun nicht blos der Kieselsäure-, sondern auch der Salzgehalt der Lösung, und wenn schon, wie Kieseritzky gezeigt hat, bei constantem Salzgehalt und gleichmässig wachsendem Kieselsäuregehalt der Lösung die Gerinnungsgeschwindigkeit in beschleunigtem Verhältnisse zunimmt, so ist es leicht sich vorzustellen, welchen Effekt es haben muss, wenn, wie es beim Einengen im Vacuum der Fall ist, zugleich und in gleichem Maasse mit dem Gehalt an Kieselsäure auch der an Salzen wächst [2]). Das von Graham sowohl als von Kieseritzky eingehaltene Verfahren bringt es mit sich, dass die aus dem Dialysator gewonnene Flüssigkeit höchstens 1,5—2,0 % Kieselsäure enthält; nun überlege man,

---

[1]) Man ist bei diesen Versuchen auf die Luftpumpe angewiesen, weil beim Einengen auf dem Dampfbade die Hitze die Coagulierbarkeit der Kieselsäure resp. die coagulierende Kraft der Salze dermaassen steigert, dass man Substanzverluste durch mehr oder weniger ausgedehnte Gerinnungen erleidet, bevor man noch mit dem Concentrieren weit gekommen ist.

[2]) Umgekehrt ist im Auge zu behalten, dass beim Verdünnen beide Grössen zugleich abnehmen.

was es für eine Wirkung haben muss, wenn dieser Gehalt an Kieselsäure und damit zugleich auch der an Kochsalz durch Wasserentziehung auf das 5—8fache erhöht wird. Wissen wir doch schon, dass die Gerinnungstendenz bei einer Kieselsäurelösung von 10—12 % schon so gross ist, dass unglaublich kleine Salzmengen hinreichen, um die Gerinnung augenblicklich herbeizuführen. Mir scheint demnach, dass, wenngleich in Graham's Lösungen der Salzgehalt im absoluten Sinne genommen gewiss sehr klein waren, die Annahme, dass sie nicht von selbst gerannen, sondern immer nur unter der Einwirkung des mitanwesenden Kochsalzes, als Möglichkeit bestehen bleibt.

Kieseritzky macht aber auch noch auf einen anderen hierher gehörigen Umstand aufmerksam, der als Fehler der zur Darstellung flüssiger Kieselsäure benutzten Methode selbst bezeichnet werden kann. Es wird sich nämlich sogleich ergeben, dass, um nicht gar zu verdünnte Kieselsäurelösungen aus dem Dialysator zu erhalten, die zum Versuch verwendete Wasserglaslösung sehr concentriert sein muss. Kieseritzky's Präparat enthielt 24,5 Gewichtsprocent Kieselsäure; um nun die Coagulierung der Kieselsäure durch das bei der Zersetzung des Wasserglases gebildete NaCl zu hindern, muss die Salzsäure in starkem Ueberschuss angewendet werden, nach Graham's, auch von Kieseritzky befolgter Angabe ist 1 Vol. concentrierter Salzsäure für 1 Vol. Wasserglaslösung erforderlich. Aber auch dieser Ueberschuss genügt noch durchaus nicht zur Hintanhaltung der Gerinnung; es muss zugleich viel Wasser hinzugefügt werden, so dass mit Hinzurechnung der Salzsäure das Wasserglas schliesslich mindestens im Verhältniss von 1 : 6 verdünnt wird. Der Kieselsäuregehalt in Kieseritzky's Lösungen wurde hierdurch allein schon auf 4 % herabgesetzt, wobei, wenn die Mischung gut gelingt, wozu nöthig ist, dass das Wasserglas in die bereits verdünnte Salzsäure plötzlich hineingeworfen und durch Umrühren rasch in ihr vertheilt wird, nicht die geringste Andeutung von Opalescenz an ihr wahrzunehmen ist.

Ebenso rasch muss sie jetzt in den Dialysator gelangen. Auf demselben liess Kieseritzky sie nun aber zur möglichst vollkommenen Entfernung der grossen Säure- und Salzmengen mindestens 5 Tage verweilen. Hier aber nimmt sie viel Wasser auf, zugleich diffundiert auch viel Kieselsäure weg (bei Kieseritzky, der das äussere Wasser im Laufe des Tages alle 2 Stunden wechselte, betrug der Verlust ca. 45% der Gesammtmenge). Es ist also nicht zu verwundern, dass der Kieselsäuregehalt seiner Lösungen schliesslich niemals 2% erreichte. Beim Herausnehmen aus dem Dialysator opalisierten sie aber trotzdem immer schon mehr oder weniger, als Zeichen dafür, dass der zur Gerinnung führende Molekularvorgang schon während der Dialyse begonnen hatte, um später, nachdem auch die hindernde Säure durch die Dialyse entfernt worden, unter der weiteren Einwirkung des Salzrestes langsam fortzuschreiten. Kieseritzky weist nun darauf hin, dass der Säureüberschuss den grossen bei der Zersetzung des Wasserglases gebildeten Salzmengen gegenüber wohl als ein annähernd vollkommenes, aber doch nicht als ein absolutes Gerinnungshinderniss wirken dürfte, besonders aber darauf, dass die Diosmose der Salzsäure eine viel raschere ist als die des Salzes und dass somit während der Dialyse selbst gegenüber der ersteren ein relatives Wachsthum des Salzgehaltes der Kieselsäurelösung stattfindet, deren Folgen offenbar nur in unvollkommener Weise dadurch beschränkt werden können, dass man der Flüssigkeit während der Dialyse von Zeit zu Zeit Säure zusetzt.

Aus den angeführten Gründen hält Kieseritzky es für denkbar, dass die Coagulierbarkeit nicht eine essentielle, sondern erworbene, durch die krystalloiden Beimengungen den Kolloidsubstanzen ertheilte Eigenschaft darstellt, die unter dem Fortwirken ihrer Ursachen zunimmt, bis sie endlich zur Umänderung des Aggregatzustandes führt. Der strenge Beweis für diese Auffassung könnte aber nur geliefert werden, wenn es gelänge, Kieselsäurelösungen höherer Concentration herzustellen, die vom ersten Augen-

blicke an absolut frei von krystalloiden Beimengungen sind und dann permanent flüssig bleiben. Dieses Ziel zu erreichen scheint aber unmöglich. —

Was den Faserstoff anbelangt, so stellt er, wie ich glaube nachgewiesen zu haben, das Endprodukt einer Reihe von Umsetzungen complicierter stickstoffhaltiger, von den Zellen gebildeter Atomcomplexe dar, welche zur Bildung verschiedener aber einander ähnlicher Eiweissformen führt, die unter einander genetisch zusammenhängen, wie die verschiedenen Formen der Kohlenhydrate in der Pflanze. Ob auch das Albumin des Blutplasmas in irgend einer Weise mit dieser Kette in Beziehung tritt, bleibt dunkel, erscheint aber jedenfalls denkbar.

Von dieser Kette interessiert mich hier zunächst nur der Theil, der mit der fibrinogenen Substanz beginnt und mit dem Faserstoff endet. In dem ersten Theil [1]) dieser Arbeit habe ich die Gründe angegeben, welche es mir mindestens sehr wahrscheinlich erscheinen lassen, dass die fibrinogene Substanz, vielleicht durch das Thrombin selbst, vom Paraglobulin abgespalten wird. Sicher ist jedenfalls, dass sie das Substrat darstellt, aus welchem unter der Einwirkung dieses Ferments der kolloidale, durch Salze coagulierbare Faserstoff entsteht. Um dieses zu beweisen, ist es aber vor allen Dingen erforderlich, dass man es auch mit wirklich reiner fibrinogener Substanz zu thun hat.

Was sollen wir nun aber vor allen Dingen als reine fibrinogene Substanz bezeichnen? Wer mit mir der Ueberzeugung ist, dass das Thrombin die Umwandlung dieser Substanz in kolloidalen Faserstoff herbeiführt, dessen Mindestforderung wird lauten, dass ihre Lösungen weder dieses Ferment noch das Substrat seiner Bildung (Prothrombin und zymoplastische Substanzen) enthalten dürfen. Unter den uns zu Gebote stehenden fibrinogenen Körper-

[1]) „Zur Blutlehre".

flüssigkeiten (Blutplasma und Transsudate) erfüllen aber nur die von mir als „proplastische“ bezeichneten Transsudate diese Forderung, so dass auch nur aus ihnen eine jener Mindestforderung absolut gerecht werdende fibrinogene Substanz abgeschieden werden kann, die niemals scheinbar spontan gerinnt, weder in ihren natürlichen, noch in ihren künstlichen Lösungen, welche letztere man sich so leicht durch Fällung mit überschüssigem Kochsalzpulver, Filtrieren und Wiederauflösen im Wasser darstellen kann. Dieselbe Substanz gerinnt aber mit unverbrüchlicher Sicherheit, sobald man auf ihre natürlichen oder künstlichen Lösungen Thrombin einwirken lässt, mag man ihnen dasselbe als solches von aussen hinzubringen, oder mag man durch Hinzufügung des Substrats seiner Bildung dafür Sorge tragen, dass es sich in ihnen entwickelt, — und zwar gerinnt sie nur dann. Kein Salz irgend welcher Art, also auch kein Kalksalz, vermag sie zu coagulieren, andernfalls würde sie ja in ihren stets Alkali- und Kochsalze enthaltenden natürlichen Lösungen extra corpus ihren flüssigen Aggregatzustand nicht bewahren können, was sie doch unbegrenzt lange thut. Sie trägt also den Kolloidalcharakter nicht von vorneherein an sich, sondern erlangt ihn erst unter der Einwirkung des Ferments. Hat diese Einwirkung aber stattgefunden, so stellt sie einen Körper dar, von welchem leicht nachzuweisen ist, dass er bei Abwesenheit von Salzen um so länger im flüssigen Zustande verharrt, je vollständiger die letzteren entfernt worden sind — eventuell bis zu der durch den Eintritt der Fäulniss gesetzten Beobachtungsgrenze — dessen Gerinnung aber jederzeit durch einen Salzzusatz herbeigeführt werden kann[1]). Ob wir uns hierbei, in Anknüpfung an

[1]) Eine nahezu salzfreie Lösung der reinen fibrinogenen Substanz stellt man sich durch eine 12—24stündige energische Dialyse eines proplastischen Transsudates dar. Die im Dialysator ausgeschiedene Substanz löst man, nachdem sie auf dem Filtrum gründlich mit Wasser gewaschen worden, unter Vermeidung eines Ueberschusses mit sehr verdünnter Natronlauge in Wasser wieder auf.

die obige die Kieselsäure betreffende Controverse, denken sollen, dass das Ferment aus diesem Körper eine an sich permanent flüssige Substanz erzeugt, zu deren Besonderheiten es gehört, dass ihr durch krystalloide Stoffe die Eigenschaft der bis zum Eintritt der Ausscheidung wachsenden Coagulierbarkeit erst ertheilt wird, oder dass das Produkt der Fermentwirkung kraft seines eigenen Wesens das Bestreben in sich trägt, sich bis zum Uebergang in den festen Aggregatzustand zu verdichten und hierin durch die Salze nur unterstützt wird, scheint mir eine zunächst belanglose Frage zu sein, die auch gar nicht mit Sicherheit entschieden werden kann, so lange es, ebenso wie bei der Kieselsäure, auch bei der fibrinogenen Substanz sich als unmöglich erweist, sie von salzigen Beimengungen ganz zu befreien.

In dem Ebengesagten drückt sich ein grosser Unterschied aus zwischen den proplastischen Transsudaten und dem Blutplasma mit Rücksicht auf ihre Brauchbarkeit zur Herstellung der reinen fibrinogenen Substanz. Ich sehe hierbei ganz ab von der Frage, ob es möglich ist diese Substanz ohne Verunreinigung mit Paraglobulin aus dem Blutplasma abzuscheiden, weil das Paraglobulin nach meiner jetzigen Auffassung, indem es sich entsprechend umwandelt, schliesslich doch auch nur dazu dient den Gehalt der betreffenden Lösung an fibrinogener Substanz, und damit auch die Ausbeute an Faserstoff zu vergrössern. Aber das Blutplasma enthält im Unterschiede von den proplastischen Transsudaten zugleich zymoplastische Substanzen und Prothrombin, welche von den Globulinen, man mag sie fällen nach welcher Methode man wolle, stets mit niedergerissen werden und von welchen sie vollkommen zu befreien ganz unmöglich ist. Ich werde später auf diesen für das Verständniss vieler von mir und Anderen angestellter Gerinnungsversuche wichtigen Umstand, dessen Nichtberücksichtigung resp. Unkenntniss zu vielen Irrthümern Veranlassung gegeben hat, mehrfach zurückkommen müssen; denn es ist klar, dass die so unvermeidlichen Verunreinigungen mit Bei-

mengungen, welche schon in den kleinsten Mengen ihre Wirkungen entfalten, das Verhalten der aus dem Blutplasma abgeschiedenen gerinnbaren Substanz beeinflussen müssen, und dass ihre Lösungen deshalb Erscheinungen zeigen, welche man an den Lösungen der aus den proplastischen Transsudaten gewonnenen reinen Substanz nicht wahrnimmt, was sogar zu der von Einzelnen ausgesprochenen, leicht zu widerlegenden Annahme Veranlassung gegeben hat, dass die fibrinogene Substanz des Blutes und der Transsudate verschiedene Dinge seien.

Mag es dahingestellt bleiben, ob der unter der Einwirkung des Thrombins aus der fibrinogenen Substanz entstehende Körper die Eigenschaft der Coagulierbarkeit als eine essentielle besitzt oder als eine ihm durch die krystalloiden Beimengungen erst ertheilte, — da es sich um einen fermentativen Akt handelt, so liegt, was seine Enstehung anbetrifft, die Annahme wohl nahe, dass dieser Körper ein Spaltungsprodukt der fibrinogenen Substanz darstellt; der Beweis würde geliefert werden durch den Nachweis der anderen etwaigen Spaltungsprodukte. Dieser Beweis fehlt aber bis jetzt.[1]) Die demnächstliegende Annahme wäre, dass

[1]) Ich erinnere bei dieser Gelegenheit daran, dass nach Hammarsten bei der Gerinnung seiner „Fibrinogenlösungen“ neben dem Faserstoff kleine Mengen einer eigenthümlichen bei 64° C. gerinnenden Globulinsubstanz auftreten sollen; auch das Blutserum soll diese Substanz neben dem gewöhnlichen Paraglobulin enthalten. Jedoch hat Hammarsten den Gedanken aufgegeben, dass es sich bei der Faserstoffgerinnung um eine durch das Thrombin bewirkte Spaltung der fibrinogenen Substanz handelt, bei welcher neben dem unlöslichen Produkt, dem Faserstoff, als zweites Spaltungsprodukt jener in Lösung bleibende Eiweisskörper entsteht; er betrachtet den letzteren als einen in Lösung gebliebenen weiter umgewandelten Rest des Fibrins (Pflüger's Archiv, Bd. 30, p. 456—482). Ich habe Hammarsten's Versuche nicht wiederholt und kann mich deshalb nur mit Reserve über sie äussern. Sind aber die von ihm beobachteten Thatsachen richtig, so erscheint mir seine Erklärung derselben nicht glücklich. „Ein in Lösung gebliebener Rest des Faserstoffs“ setzt das Vorhandensein eines primären löslichen und gelösten Faserstoffs voraus; dies könnte

die Fermentwirkung in einer direkt eingeleiteten Umwandlung oder Verdichtung der gelösten fibrinogenen Substanz zu kolloidalem Faserstoff besteht. Eins von beiden muss geschehen sein, da die fibrinogene Substanz sich nur unter der Voraussetzung der Einwirkung des Ferments in Faserstoff verwandelt und nicht etwa unter der Einwirkung von Salzen allein. Im Folgenden werde ich indess von diesen beiden Möglichkeiten absehen und nur von einer Thrombin- resp. Fermentwirkung ganz im Allgemeinen reden.

Nun wird diese Fermentwirkung, d. h. die Entstehung des kolloidalen Faserstoffs aus der fibrinogenen Substanz, wie ich schon lange gezeigt habe, durch grosse Mengen concentrierter Neutralsalze vollkommen behindert, am intensivsten durch die schwefelsaure Magnesia. Man kann sich hiervon leicht überzeugen, indem man zu irgend einer Gerinnungsmischung gleichzeitig mit dem Thrombin eine grössere Quantität dieses Salzes hinzufügt und nun die Niederschläge untersucht, welche man durch Auflösen von gepulvertem Kochsalz bis zur Sättigung in der Flüssigkeit erzeugt; man wird finden, dass sie trotz des Fermentzusatzes immer noch durchaus die Charaktere der Globuline an sich tragen, wie früh oder wie spät nach Herstellung der Mischung man sie auch durch das Salz ausgefällt haben mag. Von der Gerinnung einer solchen reichlich mit Magnesiumsulfat versehenen Mischung kann in Folge dessen natürlich keine Rede sein.

Aber bei Flüssigkeiten, welche wie das Blutplasma das Thrombin nicht von vorneherein enthalten, kommt noch ein anderer, der Fermentwirkung vorausgehender Spaltungsvorgang in Betracht,

---

aber nur der kolloidale Faserstoff sein und dass von demselben ein Theil trotz der Salze in Lösung bleibt und dann noch in eine besondere Globulinart umgewandelt wird, ist meiner Ansicht nach durch H.'s Versuche nicht bewiesen und erscheint sogar unwahrscheinlicher als die Annahme einer fermentativen Spaltung der präformierten fibrinogenen Substanz in eine kolloidale weiterhin den unlöslichen Faserstoff liefernde und in eine im gewöhnlichen Sinne lösliche, an Masse aber sehr zurücktretende Eiweissform.

der der Fermententstehung, welcher in der Spaltung des Prothrombins durch die zymoplastischen Substanzen besteht. Es hat sich nun ergeben, dass dieser Vorgang der Fermententstehung zwar auch durch einen Salzüberschuss unterdrückt wird, dass es hierzu aber viel geringerer Salzmengen bedarf, als wenn es sich um die Unterdrückung der Fermentwirkung, d. h. der Bildung des kolloidalen Faserstoffs und der sich unmittelbar daranschliessenden Gerinnung handelt. Es besteht aber auch zwischen beiden Vorgängen ein wesentlicher Unterschied; denn bei dem letzteren haben wir es eben mit der Wirkung eines unzweifelhaften Ferments zu thun, während bei dem ersteren, der Fermententstehung die zymoplastischen Substanzen das Spaltende darstellen, die wir doch gewiss nicht als eine Art Ferment ansehen können.

Man bestimme, um sich von dem Gesagten durch einen schlagenden Versuch zu überzeugen, die Salzmenge, welche nöthig ist, um die Gerinnung eines proplastischen Transsudates (oder einer daraus gewonnenen Lösung der fibrinogenen Substanz), die man unmittelbar vorher mit einer Thrombinlösung versehen hat, zu unterdrücken. Jetzt ändere man die Versuchsbedingungen in soweit ab, dass die Verhältnisse denen entsprechen, welche im Blutplasma im Moment der Trennung vom Organismus gegeben sind, d. h. man lasse nicht freies Thrombin auf die Flüssigkeit einwirken, sondern man treffe Veranstaltung, dass sich dasselbe erst in ihr entwickeln muss, indem man ihr soviel Prothrombinlösung und zugleich zymoplastische Substanzen hinzufügt, bis man es zu einer rasch erfolgenden Gerinnung gebracht hat. Man bestimme nun die zur Unterdrückung der Gerinnung einer solchen Mischung erforderliche Salzmenge und man wird sie vergleichsweise sehr klein finden.[1]) Auch mit einer künstlichen Lösung der Plasmaglobuline

[1]) Ich erinnere daran, dass ich unter der Bezeichnung „Prothrombinlösung“ ein Blutserum verstehe, aus welchem man durch eine mindestens zweitägige Dialyse die die Prothrombinspaltung hemmenden Bestandtheile entfernt hat,

lassen diese Versuche sich mit Erfolg ausführen, wie sich später zeigen wird.

Sehen wir nun von der Complikation ab, welche darin besteht, dass in besonderen Fällen die Faserstoffgerinnung nur auf Grundlage einer vorausgegangenen Spaltung des Prothrombins stattfinden kann und halten wir uns an den einfacheren Fall, an Gerinnungsflüssigkeiten, welche bereits freies Thrombin enthalten oder in welche es von aussen hineingebracht worden, so lehrt die Erfahrung, dass für die Unterdrückung seiner Wirkung nicht die absolute Grösse des Salzzusatzes maassgebend ist, sondern die relative, also die Concentration. Deshalb ruft man in einer thrombinhaltigen Flüssigkeit, deren Gerinnung man durch einen hinreichenden Salzzusatz vollkommen gehemmt hat, dieselbe durch Verdünnen mit Wasser wieder hervor, und zwar am schnellsten, wenn man den relativen Salzgehalt durch den Wasserzusatz auf dasjenige Maass herabgedrückt hat, bei welchem er, ohne die Thätigkeit des Ferments mehr zu stören, seine coagulierenden Kräfte auf das Produkt dieser Thätigkeit, auf den kolloidalen Faserstoff, am allergünstigsten entfaltet. Umgekehrt wird man salzfreien oder sehr salzarmen thrombinhaltigen Gerinnungsflüssigkeiten, um die Coagulation des Faserstoffs herbeizuführen, Salz zusetzen.

---

während in dieser Zeit zugleich auch das im Serum enthaltene freie Thrombin zerfallen ist. Man wird bei Ausführung der im Text angegebenen Versuche die Fermententwicklung in hohem Grade steigern, wenn man zugleich die Alkalescenz der betreffenden Gerinnungsgemische gemäss meinen früheren Angaben vorübergehend erhöht und trotzdem finden, dass die Salze auch bei dieser Versuchsanordnung die Gerinnung viel energischer unterdrücken, als bei Gegenwart von freiem Thrombin. Dies wird sich dann am deutlichsten zeigen, wenn die Thrombinentwickelung in der betreffenden Versuchsflüssigkeit eine so rasche und reichliche ist, dass ihre Gerinnung, sofern kein Salzsusatz stattgefunden hat, schneller verläuft, als diejenige der mit dem freien Thrombin versehenen Vergleichsflüssigkeit.

Ein Beispiel für den ersteren Fall bietet uns, wie ich schon früher betont habe, das nach meinen Angaben bereitete Magnesiumsulfatplasma dar. Im unverdünnten Zustande ist sein Salzgehalt zu gross als dass durch Thrombinzusatz eine Wirkung erzielt werden könnte. Indem man dasselbe nun aber soweit mit Wasser verdünnt, dass sein Gesammtsalzgehalt dem des natürlichen Plasmas ungefähr gleichkommt, macht man die darin präformierten Globuline dem Angriff des Ferments zugänglich, worauf dann die Coagulierung des dabei erzeugten kolloidalen Faserstoffs durch das Salz folgt. Aber durch Verdünnung allein, ohne Fermentzusatz, wird die Gerinnung des Magnesiumsalzplasmas nicht herbeigeführt, denn die Spaltung des Prothrombins bleibt trotz der Verdünnung durch das Magnesiumsulfat unterdrückt; in Hinsicht auf diese Wirkung überragt das Magnesiumsulfat alle anderen Neutralsalze der Alkalien und alkalische Erden so weit, dass es fast als ein Specifikum gegen die Prothrombinspaltung angesehen werden kann. Wenn den proplastischen Transsudaten die spontane Gerinnungsfähigkeit vollkommen abgeht, weil ihnen die Substrate der Fermentbildung fehlen, so werden die letzteren im Magnesiumsulfatplasma durch das Magnesiasalz vollständig lahmgelegt (vorausgesetzt natürlich, dass das Präparat ein gelungenes ist, d. h. dass der Salzzusatz den besonderen im gegebenen Plasma wirkenden spaltenden Kräften entsprach). Die Gerinnung des Magnesiumsulfatplasmas kann also nur erfolgen auf Grund der Einwirkung von zugesetztem freien Ferment auf die präformierte fibrinogene Substanz, grade wie diejenige der proplastischen Transsudate, und hierauf beruht es, dass es so gut wie die letzteren als Reagens gegen das freie Thrombin benutzt werden kann.

Es machen sich nun aber beim Vergleich des kolloidalen Faserstoffs mit der Kieselsäure auch gewisse, von der verschiedenen Natur der Substanz abhängige Unterschiede

geltend, deren Kenntniss sowohl für das Verständniss meiner weiteren Mittheilungen erforderlich ist, als sie auch denjenigen, der meine Versuche wiederholen will, vor manchem Irrweg bewahren würde. Ich will diese Unterschiede hier zusammenfassen:

1. Für die Kieselsäure giebt es keine Beschränkung der Gerinnungszeit, wohl aber, wegen eintretender Zersetzungen, für den kolloidalen Faserstoff. Man wird sich daher jedesmal, wenn eine erwartete Fibringerinnung innerhalb der durch die Natur der Sache zugemessenen Beobachtungszeit sich nicht einstellt, zu fragen haben, ob sie nicht doch eingetreten wäre, wenn die Fäulniss nicht störend dazwischengekommen wäre. Im Ganzen aber wird man sehr selten in die Lage kommen, sich diese Frage vorlegen zu müssen, da man bei vorsichtiger Versuchsanordnung fast immer seinen Zweck rechtzeitig erreicht. Zuweilen, bei sehr spät eintretender Gerinnung, setzt sie sich noch in die Periode der beginnenden Fäulniss kurze Zeit fort, oder sie fängt gar erst in dieser Periode an; in beiden Fällen geräth sie aber bald in's Stocken und man muss aufmerksam sein, um sie überhaupt wahrzunehmen, denn der unter solchen Umständen sehr langsam entstehende Faserstoff ist zugleich von so lockerem Gefüge, dass er während des Fortgangs des Prozesses auch wieder zerfällt und sich auflöst, so dass er leicht übersehen werden kann. Aber ein solcher leicht wieder zerfallender und sich auflösender Faserstoff kann auch in frischen Flüssigkeiten entstehen, wenn, wie ich schon in meinen frühesten Arbeiten hervorgehoben habe, die Gerinnung unter sehr ungünstigen Umständen abläuft, bei Flüssigkeiten, welche sehr globulinarm sind, bei grosser Armuth an Thrombin, bei überschüssigem, die Thrombinwirkung beschränkendem Gehalt an Alkalien oder Salzen u. s. w. Auf solche Verhältnisse bezog ich unter anderem die rasche Wiederauflösung des Froschblutfibrins im Serum.

Andererseits lernt man aus diesen Versuchen, dass man mit seinem Urtheil zurückhaltend sein muss, wenn es sich darum handelt eine Flüssigkeit für nicht gerinnbar zu erklären; ich habe voll-

kommen erschöpfende Gerinnungen erst nach 6—8 Tagen eintreten sehen. Die kurze Angabe „nicht geronnen“ unter Umständen, wo eine Gerinnung zu erwarten wäre, ohne gleichzeitige Angabe der Beobachtungszeit ist daher wenig vertrauenswürdig.

2. Die Kieselsäuregerinnung wird durch Säuren behindert, durch Alkalien begünstigt und zwar in beiden Fällen sehr energisch, die Faserstoffgerinnung aber wird sowohl durch Alkalien als durch Säuren behindert. Es ist bekannt wie kleine Mengen derselben die Faserstoffgerinnung vollkommen unmöglich machen; sie hemmen nicht blos die Coagulierung des fertigen, kolloidalen Faserstoffs, sondern auch seine Entstehung aus der fibrinogenen Substanz unter der Einwirkung des Ferments. Für manche Versuchszwecke, insbesondere auch für die Darstellung eines dauernd flüssig bleibenden kolloidalen Faserstoffs ist es nun aber durchaus nöthig sich salzfreie Globulinlösungen zu verschaffen. Die Globuline müssen also aus ihren verdünnten Mutterflüssigkeiten, meist doch dem Plasma, durch Kohlensäure oder Essigsäure abgeschieden und nach stattgehabter Reinigung durch mehrfache Wiederholung dieser Procedur, statt mit Kochsalzlösung mit höchst verdünnter Natronlauge aufgelöst werden. Hierbei muss nun wiederum mit der äussersten Vorsicht verfahren werden; man gehe mit dem Zusatz der Natronlösung nur soweit, dass zuletzt keine trübenden Partikelchen mehr wahrnehmbar sind oder besser noch, man lässt einen schwachen Rest der Trübung bestehen, und filtriert dann möglichst rasch, weil wegen des vom Globulinniederschlag mit eingeschlossenen Fermentbildungssubstrats, wenn dasselbe in grösserer Menge vorhanden ist, nur zu bald die Thrombinentwickelung und die Bildung des kolloidalen Faserstoffs beginnen könnte, bei dessen Filtration man um so grössere Verluste erleidet, je weiter er in der an der zunehmenden Opalescenz erkennbaren Verdichtung vorgeschritten ist. Niemals aber gehe man darauf aus, die nach der Auflösung der Partikelchen stets nachbleibende schwache Opalescenz durch weiteren Zusatz der verdünnten Natronlösung ganz zu beseitigen;

dazu ist ein relativ beträchtlicher Alkaliüberschuss erforderlich, der nun auch das von den Globulinen eingeschlossene Prothrombin zerstört, um so leichter je geringere Reste desselben vorhanden sind, d. h. je mehr man die Globuline durch wiederholtes Fällen und Wiederauflösen gereinigt hat. Die Zerstörung des Prothrombins allein zwar wäre eher vortheilhaft als nachtheilig für die Versuchszwecke, da dadurch der Flüssigkeit die Möglichkeit „von selbst" zu gerinnen vollständig genommen würde; aber die Alkaliwirkung bleibt hierbei nicht stehen, sondern erfasst weiter auch die Globuline selbst, welche in Alkalialbuminat übergeführt werden, eine Umwandlung, welche bei diesen Eiweissformen viel leichter vor sich geht als bei dem Albumin.

Da auch in den bestgereinigten Globulinniederschlägen doch immer noch Spuren von Salzen, selbst von löslichen, enthalten sind und da ferner bei vorsichtigem Auflösen mit verdünnter NaO-Lösung das wenngleich in Spuren eingeschlossene Fermentbildungssubstrat unangetastet bleibt, so kommt es nicht selten zu spontanen Gerinnungen, aber meist sehr schwachen, schwer erkennbaren und durch die eintretende Fäulniss bald ganz unkenntlich gemachten.

Hammarsten hat darauf aufmerksam gemacht, dass alkaliarme Globulinlösungen durch sehr kleine Kochsalzmengen getrübt werden und dass diese Trübungen bei weiterem NaCl-Zusatz wieder schwinden.[1]) Diese Erscheinung beobachtet man auch bei den schwach alkalischen, als Gerinnungsflüssigkeiten dienenden künstlichen Globulinlösungen. Will man nun eine solche Flüssigkeit durch einen passenden Kochsalzzusatz zu rascher Gerinnung bringen, so fahre man mit dem Zusatz so lange fort, bis die anfänglich auftretende Trübung, wenigstens theilweise, wieder geschwunden ist.

3. Die Kieselsäure ist, nachdem man sie durch Dialyse von den sie verunreinigenden Beimengungen befreit hat, ein von vorn-

[1]) Pfl. Arch. Bd. XVIII, p. 39—41.

herein mit allen seinen Eigenschaften gegebener Stoff; der kolloidale Faserstoff *entsteht* aber erst im Blutplasma oder in künstlichen, neben der fibrinogenen Substanz auch die Substrate der Fermentbildung enthaltenden Lösungen aus der ersteren als aus einem andersartigen Material, und zwar auf Grundlage einer Reihe von vorausgehenden chemischen Akten, die etwas ganz anderes sind, als der Vorgang der Gerinnung selbst. Dies zwingt nicht blos dazu den einzelnen Fall zu analysieren, um zu ermitteln, ob eine etwa stattgehabte hemmende oder begünstigende Beeinflussung der Gerinnung sich auf den eigentlich so benannten Akt selbst bezieht, oder auf einen der ihm vorausgehenden, und auf welchen resp. auf welchen vorzugsweise, sondern man hat auch zu berücksichtigen, dass der kolloidale Faserstoff, als *werdender* Stoff, seine Eigenschaften erst *in der Zeit* ausprägt. Es lässt sich dies sehr schön bei langsamem Verlauf der Gerinnung beobachten z. B. bei Pferdeblutplasma, das man gekühlt oder mit Gallensalz oder mit irgend einem anderen gerinnungshemmendem Stoffe so weit versehen hat, dass die Gerinnung nicht ganz unterdrückt wird; ebenso aber auch bei allen künstlichen fermenthaltigen nicht zu rasch zum Abschluss gelangenden Gerinnungsmischungen. Was aus Kieselsäurelösungen, verdünnten oder concentrierten, durch grosse oder kleine Salzzusätze ausgeschieden wird, ist immer ein und dasselbe, die unlösliche Kieselsäure, denn was sich vorher in den betreffenden Lösungen befand, war substanziell, abgesehen vom Verdichtungsgrade, eben auch ein und dasselbe. Ganz anders beim Faserstoff. Schon die Globuline werden bekanntlich durch Neutralsalze aus ihren natürlichen sowohl als ihren künstlichen, alkalischen oder salzigen Lösungen gefällt, aber es sind dazu sehr grosse Salzmengen erforderlich und was dabei gefällt worden ist, erweist sich als unverändertes Globulin. Das gilt aber nicht mehr, sobald man das Thrombin hat einwirken lassen. Anfangs wird man auch dann noch grosser Salzzusätze bedürfen um eine Fällung zu bewirken, indess doch nicht mehr so grosser, wie bei den Glo-

bulinen. Was aber dabei gefällt wird ist schon kein Globulin mehr, sondern ein Zwischending zwischen ihm und dem Faserstoff; es ist noch löslich in verdünnten Alkalien, Säuren und in Kochsalzlösungen, aber schon schwerer als das unveränderte Globulin und viel leichter, als der Faserstoff. Mit dem Fortschreiten der Zeit werden nun die zur Fällung erforderlichen Salzmengen immer kleiner, das Fällungsprodukt aber wird immer schwerlöslicher in den genannten Agentien; dann schwindet zuerst die Löslichkeit in Kochsalz, darauf die in der verdünnten Essigsäure, während die in verdünnter Natronlauge noch fortbesteht, aber in abnehmendem Sinne. Schliesslich genügt der kleinste Salzzusatz, in den gerinnbaren Körperflüssigkeiten der eigne Salzgehalt, um den relativ unlöslichsten, d. h. gewöhnlichen Faserstoff auszuscheiden. Man kann die fortschreitende Verdichtung des Fermentationsprodukts auch daran erkennen, dass die aus den salzfreien Globulinlösungen nach dem Thrombinzusatz durch Uebersättigung mit Kochsalz erzeugten Fällungen schon gleich anfangs in den bekannten Lösungsmitteln nicht blos schwerer löslich, sondern dass sie auch feinflockiger sind als die vor dem Hinzufügen des Ferments durch dasselbe Mittel erhaltenen Globulinniederschläge; sie werden dann immer grobflockiger, weiterhin klumpig und endlich fällt eine homogene, compakte Masse heraus, die sich, vielleicht nur einige Augenblicke später, von selbst, als gewöhnlicher Faserstoff, ausgeschieden hätte.[1])

Es ist selbstverständlich, dass der vorzeitig gefällte, unfertige Faserstoff, nachdem er in verdünnter Kochsalzlösung aufgelöst worden, was nur in den Anfangsstadien der fermentativen Umwandlung gelingt, sofern kein Salzüberschuss voorhanden ist, sehr bald gerinnt, um nur den fertigen Faserstoff zu liefern. Der unfertige Faserstoff schliesst bei seiner Fällung ja stets nicht blos

[1]) Ich bemerke hierzu, dass der durch Uebersättigung mit Kochsalz vorzeitig ausgeschiedene Faserstoff beim Liegen unter der Salzlösung mit der Zeit dieselbe Widerstandsfähigkeit gegen lösende Agentien erlangt, welche dem gewöhnlichen Faserstoff zukommt.

etwas von dem freien Thrombin ein, welcher bei seiner Auflösung zur Wirkung kommt, sondern ausserdem noch, wenn er aus dem Blutplasma stammt, mehr oder weniger von dem fermentbildenden Material. Ebenso und aus denselben Gründen gerinnen auch die vorsichtig hergestellten alkalischen Lösungen des unfertigen Faserstoffs allendlich, nachdem man ihnen sicherheitshalber behufs Ueberführung in die coagulierte Modification etwas NaCl hinzugefügt hat.

Ein sehr gutes Material zur Darstellung des kolloidalen Faserstoffs stellen die durch wiederholtes Fällen und Wiederauflösen mit Kohlensäure oder verdünnter Essigsäure resp. mit verdünnter Natronlösung möglichst von den Einschlüssen befreiten Globulinniederschläge aus verdünntem Pferdeblutplasma dar. Man braucht sie zu diesem Behuf nur vorsichtig mit Natronlösung (natürlich nicht mit Kochsalzlösung) aufzulösen und etwas Thrombinlösung hinzuzufügen; nöthigenfalls verdünnt man noch das Gemisch. Nach einiger Zeit wird man bemerken, dass Proben dieser fermenthaltigen Lösung nach sehr geringen Kochsalzzusätzen entweder augenblicklich oder doch in ein paar Minuten gerinnen, was anfangs keineswegs der Fall war, während der Rest der Lösung bis in die Fäulnissperiode hinein flüssig bleibt oder doch nur die Zeichen einer beginnenden, durch den Eintritt der Fäulniss bald unterbrochenen Gerinnung zeigt.

Aus den proplastischen Transsudaten scheidet man die fibrinogene Substanz am besten durch Sättigung mit überschüssigem gepulvertem Kochsalz aus. Der Ueberschuss senkt sich rasch zu Boden und darüber lagert sich die feinflockig ausgeschiedene Substanz. Es ist leicht sie mit Zurücklassung des Bodensatzes von Kochsalz auf das Filtrum zu bringen. Man löst sie dann vermittelst der ihr anhaftenden und vom Papier aufgesogenen concentrierten Kochsalzlösung durch Uebergiessen mit Wasser und fällt sie, wenn nöthig, aus dem Filtrat noch einmal mit Kochsalzpulver u. s. w. Man mag nun eine solche salzige Lösung der fibrinogenen Substanz aufbewahren so lange man will, niemals

fällt man aus ihr durch Kochsalzpulver oder gesättigte Kochsalzlösung eine Substanz, welche die mindeste Aehnlichkeit hätte mit dem unfertigen oder gar mit dem fertigen Faserstoff; was sich dabei ausscheidet ist immer nur die fibrinogene Substanz mit allen ihren Eigenthümlichkeiten. Man füge der salzigen Lösung derselben etwas Thrombinlösung hinzu und man wird alle die soeben für die Plasmaglobuline beschriebenen Uebergangsstufen zum fertigen Faserstoff in schönster Ordnung in ihr auftreten sehen.

Da die natürlichen Lösungsmittel der Globuline, wie ich schon früher mehrfach betont habe, in den betreffenden Körperflüssigkeiten stets in Ueberschuss vorhanden sind (was sich einfach schon daraus ergiebt, dass die letzteren ausser ihrem natürlichen Gehalt an diesen Substanzen Quantitäten derselben noch aufzulösen vermögen, die grösser sind als dieser Gehalt selbst), so ist es begreiflich, dass der kolloidale Faserstoff, der zwar in denselben Agentien löslich ist wie die Globuline, dessen Löslichkeit aber mit der fortschreitenden Entwickelung seines Kolloidalcharakters in stetig wachsender Abnahme begriffen ist, trotzdem seiner ganzen Masse nach in Lösung bleibt, bis er denjenigen Grad der Entwickelung erreicht, bei welchem er durch die vorhandenen Salze als gewöhnlicher Faserstoff gewissermassen aus der Lösung hinausgeworfen wird. Bei genau gesättigten alkalischen Lösungen der Plasmaglobuline scheidet sich deshalb nach Thrombinzusatz ein Theil des kolloidalen Faserstoffs als unfertiger Faserstoff aus, während der in Lösung bleibende Rest sich weiter entwickelt und schliesslich durch einen geringen Salzzusatz als gewöhnlicher Faserstoff gefällt wird. Man wird sich zu diesen Versuchen möglichst globulinreicher Lösungen bedienen, denn bei sehr globulinarmen von genau gesättigten Lösungen zu reden ist mit Rücksicht auf die gefährlichen Eigenschaften der Alkalien ein missliches Ding. Uebrigens kann man den kolloidalen Faserstoff auch noch durch andere Mittel mitten in seiner Entwickelung, also vorzeitig, ausfällen, und zwar durch Alkalientziehung mittelst Kohlensäure oder verdünnter Essigsäure.

Am besten eignet sich zu diesen Versuchen das kalt filtrierte, bei Zimmertemperatur allmählich erwarmende Pferdeblutplasma. Nach stattgehabter Verdünnung mit Wasser fällt man aus demselben mit den genannten Säuren Massen aus, welche je nach dem Zeitmoment der Verdünnung und Fällung mehr oder weniger grobflockig, mehr oder weniger löslich in verdünnten Alkalien, Säuren und Kochsalzlösungen sind, kurz sich in Allem, ganz wie die durch Uebersättigung mit Kochsalz erzeugten Niederschläge, als Uebergangsstufen zum echten Faserstoff ankündigen.

4. Erwärmen begünstigt die Coagulierung der Kieselsäure sowohl als des kolloidalen Farbstoffs in hohem Grade, aber während man bei der ersteren unbekümmert bis zur Siedetemperatur ansteigen kann tritt bei letzterem sehr bald eine Grenze ein, von welcher an die schädliche, geradezu zweckwidrige Wirkung der Wärme beginnt. Die Ursache dieser Erscheinung liegt, wie Kieseritzky gezeigt hat, in der enormen Steigerung der schädlichen Alkaliwirkung durch die Wärme[1]). Es ist bekannt wie geringe Alkalimengen beim Erhitzen hinreichen, um selbst das Albumin in Alkalialbuminat zu verwandeln; in viel höherem Grade gilt dies nun aber auch von den Globulinen und ebenso vom kolloidalen Faserstoff, von dem letzteren in den Anfangsstadien seiner Entwickelung natürlich mehr, als später. Eine mehr oder weniger lange flüssigbleibende Lösung des kolloidalen Faserstoffs lässt sich aber nur durch die Einwirkung des Thrombins auf alkalische, salzfreie oder mindestens sehr salzarme Globulinlösungen erzeugen. Dazu kommt, dass Wärme auch die Lösungskraft der Alkalien für die Globuline und den kolloidalen Faserstoff, wie leicht nachzuweisen ist, erhöht, so dass in einer bei gew. Temperatur genau gesättigten Lösung derselben beim Erwärmen ein relativer Alkaliüberschuss entsteht. Lässt man nun auf eine gesättigte alkalische, salzfreie Globulinlösung das Thrombin bei

[1]) Kieseritzky, a. a. O., p. 51, 52, 61.

Zimmertemperatur einwirken und bringt dann etwas Kochsalz zur Coagulierung derselben hinzu, so wird der kolloidale Faserstoff, wenn er Zeit gehabt in seiner Entwickelung sehr weit vorzuschreiten, dadurch meist fast momentan coaguliert, so dass der Versuch die Coagulierung durch Erwärmen zu beschleunigen überhaupt gar nicht möglich ist. Erwärmt man aber die Globulinlösung unmittelbar nach dem Thrombin- und Salzzusatz, so erhält man die erschöpfendsten Gerinnungen, mit typisch ausgebildetem Faserstoff, nur wenn man langsam verfährt und bei niederen Temperaturgraden etwa bei 35°, höchstens bei 45° C. stehen bleibt. Nicht selten aber, namentlich wenn ein Alkaliüberschuss vorhanden ist, sind schon diese Temperaturgrade zu hoch, um so mehr solche von 50 bis 60°. Es scheidet sich in solchen Fällen der Faserstoff in Form von Flocken und Klumpen aus, aber auffallend wenig[1]); ein mehr oder weniger grosser Theil seines Substrates ist eben durch die kombinierte Wirkung der Wärme und des Alkalis in Albuminat verwandelt worden und dadurch für die Gerinnung verloren gegangen. So kann es sogar vorkommen, dass eine mit einem Alkaliüberschuss versehene Lösung der Globuline oder des kolloidalen Faserstoffs, welche bei gewöhnlicher Temperatur doch noch, wenn auch langsam gerinnt, beim Erwärmen trotz des hinzugefügten Salzes nicht blos gar keinen Faserstoff ausscheidet, sondern auch ihre Gerinnungsfähigkeit total einbüsst, so dass weder Abstumpfen des Alkaliüberschusses noch ein Thrombinzusatz, weder in der Wärme noch nach dem Erkalten den mindesten Effekt mehr auf sie ausüben. Nur zu leicht aber gelangt ein Alkaliüberschuss in die Lösungen dieser so ausserordentlich leicht veränderlichen Substanzen.

[1]) Die flockig-klumpige Gestalt der Gerinnsel macht den Eindruck, als ob in der Wärme der kolloidale Faserstoff durch die Salze vorzeitig, bevor er seine volle Entwickelung erreicht, also als unfertiger Faserstoff coagulirt würde, vielleicht dadurch, dass das Thrombin, bevor es seine ganze Arbeit geleistet, durch die steigende Wärme zerstört wird.

Wegen des von den Globulinen eingeschlossenen Fermentbildungsmaterials kann es aber auch vorkommen, dass ihre gesättigt alkalischen, mit einem Salzzusatz versehenen Lösungen beim Erwärmen gerinnen, ohne dass ein Thrombinzusatz stattgefunden hat. Dies ist verständlich; denn Alkalien in kleinen Mengen begünstigen, wie wir wissen, in hohem Grade die Spaltung des Prothrombins durch die zymoplastischen Substanzen und auch diese Wirkung der Alkalien wird durch Wärme gesteigert; aber auch hier drohen Gefahren, nämlich die vollkommene Zerstörung des Prothrombins resp. des von ihm abgespaltenen Thrombins durch die combinierte Wirkung des Alkalis und der Wärme.

Die Temperatur des Pferdeblutplasmas kann man bei raschem Erwärmen bis 45 ° und noch höher ansteigen machen, bevor die Gerinnung eintritt; sie ist aber bis zu diesen Temperaturgrenzen immer eine vollkommen typische und Verluste durch Ueberführung der Globuline in Albuminat kommen dabei offenbar nicht vor. Es erscheint mir wahrscheinlich, dass das Blutplasma und in geringerer Menge vielleicht auch die Transsudate Stoffe enthalten, welche die schädlichen Wirkungen der Alkalien in der Wärme beschränken. Hier käme vielleicht die Möglichkeit in Betracht, dass die alkalische Reaktion dieser Flüssigkeiten nicht durch freies Natron sondern durch eine sanfter wirkende Verbindung desselben bewirkt wird.

Kieseritzky hat bei sehr raschem Erwärmen von Pferdeblutplasma bis auf etwa 56 ° die von L. Fredericq beschriebenen flockigen Ausscheidungen auftreten sehen; aber er ist nicht der Meinung, dass es sich dabei um eine Hitzegerinnung der fibrinogenen Substanz handelt, sondern er leitet diese Ausscheidungen von der durch die Wärme beschleunigten Coagulierung des „fermentativen Umwandlungsproduktes“ der Faserstoffgerinnung, also des kolloidalen Faserstoffs durch die Salze, ab.[1]) Auch mir erscheint

[1]) A. a. O. p. 63—68.

es unwahrscheinlich, dass nicht wenigstens ein Theil des Gerinnungssubstrats selbst beim allerraschesten Erwärmen in kolloidalen Faserstoff, wenigstens in seinen ersten Entwickelungsstufen, übergeführt werden sollte. Auf die Spuren des im Plasma präformiert enthaltenen Ferments will ich mich hierbei nicht berufen, wohl aber auf die durch die Wärme beschleunigte Fermententwickelung, die doch sicherlich ihre Consequenzen hat, bevor die zerstörende Einwirkung der relativ hohen Wärmegrade beginnt; aber diese zerstörenden Einwirkungen scheinen denn doch auch schliesslich einzutreten, denn die Flocken haben das Ansehen unfertigen Faserstoffs, und ihre Menge ist offenbar zu gering in Relation zur Menge des Faserstoffes, welche das Plasma unter gewöhnlichen Umständen liefert. Beim Erwärmen des Plasma bis nahe zur Grenze wo die Flockenbildung beginnt, rasch darauffolgendem Uebersättigen mit Kochsalz könnte die Sache leicht entschieden werden, indem man nur festzustellen hat, ob der Niederschlag noch den Charakter einer Globulinsubstanz oder, wenigstens theilweise schon den eines unfertigen Faserstoffs oder gar eines Albuminats an sich trägt.

Gemäss einer alten von mir stammenden und unter Anderen auch von Kieseritzky bestätigten Angabe wird Hydroceleflüssigkeit durch rasches Erwärmen bis auf 60 ° äusserlich sichtbar gar nicht verändert, eine Angabe, die ich jetzt auch auf die vom Pferde stammenden proplastischen Transsudate ausdehne. Nach Fermentzusatz aber und Auflösen von Paraglobulin in der Flüssigkeit treten die flockigen Ausscheidungen beim Erwärmen auf. Dass Kieseritzky sie nach Trombinzusatz allein nicht auftreten sah, mag wohl an Nebenumständen gelegen haben, etwa an einem zu geringen Globulingehalt der Hydroceleflüssigkeit oder an relativer Unwirksamkeit seiner Fermentlösung oder dergl. Mit dem Paraglobulin gelangte eben noch eine Menge Ferment in die Flüssigkeit und die Flockenbildung beim Erwärmen war eine sehr reichliche.

5. Eine gefrorene Kieselsäurelösung gerinnt beim Aufthauen und zwar schon bei ca. 0 °. Kieseritzky fand, dass eine Kieselsäurelösung von 2,4 % bei — 0,8 °, eine solche von 1,79 % bei — 0,6 ° C. gefror. Der Eisklumpen „schien, als die Temparatur 0 ° wieder überschritt, gar nicht schmelzen zu wollen, statt dessen fand sich ein Gallertklumpen vor, so dass es gerade so aussah, als habe sich das Eis in die Gallerte verwandelt." Beim Wiederaufthauen einer Kieselsäurelösung von 1,7 % schied sich die Kieselsäure „mehr in Klumpen und Flocken" aus. Liess nun Kieseritzky eine den kolloidalen Faserstoff enthaltende mit etwas NaCl versetzte Flüssigkeit gefrieren, so gerann sie „während des Schmelzens oder doch einige Minuten später." Eine gefrorene Hydroceleflüssigkeit veränderte sich beim Aufthauen gar nicht, wohl aber erfolgte die Gerinnung wenn er vor dem Gefrieren Paraglobulin (und Thrombin) in der Hydroceleflüssigkeit aufgelöst hatte.[1])

Schon vor Kieseritzki hatte J. Sachssendahl in Anknüpfung an die Versuche von Naunyn und Francken den Einfluss der Procedur des Gefrierens und Wiederaufthauens auf die Faserstoffgewinnung studiert.[2]) Die genannten Forscher erzeugten bekanntlich durch intravaskuläre Injektion von Blut, dessen rothe Elemente sie durch wiederholtes Gefrieren- und Wiederaufthauenlassen aufgelöst hatten, tödtliche Thrombosen, ein Effekt, der durch einen bezüglichen extra corpus angestellten Versuch bestätigt wurde, dessen Ursache aber, wie sich später herausstellte, nicht im Hämoglobin selbst lag, sondern theils in den mitaufgelösten alkohollöslichen Bestandtheilen der rothen Blutkörperchen, theils in ihren, dieselben Bestandtheile enthaltenden und in der Hämoglobinlösung suspendierten Stromaten. Hierbei beobachtete

[1]) Kieseritzky a. a. O. p. 17, 18, 52, 53. Ueber die Methode der Darstellung der von ihm benutzten gesättigt alkalischen, möglichst salzfreien wässerigen Lösungen des kolloidalen Faserstoffs s. ebendas. p. 38—42.

[2]) J. Sachssendahl. Ueber gelöstes Hämoglobin im cirkulierenden Blute. Inaug-Abh. Dorpat 1880 p. 5—9.

nun Sachssendahl, dass die Gerinnung solcher Flüssigkeiten, welche neben dem Gerinnungssubstrat freies Ferment enthalten, durch das Gefrieren und Wiederaufthauen in hohem Grade begünstigt wird. Aber dasselbe galt auch von solchen Flüssigkeiten, die nur auf Grund einer vorausgehenden Thrombinentwickelung gerinnen können, wie vom nicht filtrierten, an farblosen Elementen reichen, und vom filtrierten Pferdeblutplasma. Beim nicht filtrierten Plasma sah Sachssendahl, dass die schon nach dem erstmaligen Aufthauen von Eisklumpen peripherisch abschmelzende Flüssigkeit Fibrinflocken enthielt; nach dem zweiten Aufthauen gerann die Flüssigkeit während in ihrem Centrum sich noch ein Eisblock befand; da die abschmelzende und gerinnende Flüssigkeit zunächst ganz klar war, so schloss der Eisblock offenbar die noch erhaltenen Leucocyten ein. Befühlte Sachssendahl von Zeit zu Zeit diesen Eisklumpen mit einem Glasstabe so schien plötzlich der Eisklumpen ohne vorangegangene Schmelzung sich in einen Fibrinklumpen verwandelt zu haben; unter dem Mikroskop schien der letztere nur aus zerfallenem Zellendetritus und den noch erhaltenen farblosen Blutkörperchen zu bestehen. Es kam auch vor, dass das Plasma erst nach beendeter Schmelzung des Eises gerann, aber dann doch immer bei sehr niedrigen Temperaturen, welche die Gerinnung des nicht der Procedur des Gefrierens und Wiederaufthauens unterworfen gewesenen Plasmas mehr oder weniger anhaltend unterdrückt hätten. Auch das wiederholt zu Eis gefrorene filtrirte Plasma gerann zuletzt „während des Aufthauens, obgleich viel schwächer und unergiebiger als bei Gegenwart der weissen Blutkörperchen". Von einem lungenleidenden Pferde erhielt Sachssendahl eine sehr concentrierte Pleuraflüssigkeit, welche zugleich ausserordentlich reich an Laukocyten war. In dieser Flüssigkeit stellten sich erst nach achttägigem Stehen (bei Zimmertemperatur) unbedeutende Fibrinausscheidungen ein. „Sie gerann aber sehr schnell und schon bei niederer Temparatur" nachdem Sachssendahl sie zweimal hatte gefrieren und wiederaufthauen

lassen. Auf das nach Abkühlung bis auf 5—6° C. erhaltene absolut klare Filtrat dieses Transsudats aber übte diese Procedur keine Wirkung aus, wohl aber auf die 5 Tage später von den Zellen abfiltrierte Flüssigkeit.

Auch Hammarsten hat die mächtige gerinnungsbefördernde Wirkung des Gefrierens und Wiederaufthauens an Blutplasma, an Hydroceleflüssigkeiten und an seinen Fibrinogenlösungen beobachtet, und auch er weist nach, dass es nicht das genuine Gerinnungssubstrat, sondern das aus demselben entstandene fermentative Umwandlungsprodukt ist, auf „welches jene Procedur ihre Wirkung ausübt.“ [1]) Nach ihm entsteht beim Aufthauen von gefrorenem filtriertem Pferdeblutplasma stets nur eine feine Fällung, die bei schwachem Erwärmen sich wieder auflöst und die ein paar mal so geringfügig war, „dass sie bei oberflächlicher Betrachtung vielleicht hätte übersehen werden können.“ Auch Sachssendahl fand die Ausscheidungen im filtrierten Plasma viel unbedeutender als im nicht filtrierten, aber ich erinnere mich derselben gut genug um sagen zu können, dass Hammarstens Beschreibung auf sie nicht passt, denn es befanden sich unter denselben doch immer gröbere Flocken und selbst Klümpchen verschiedener Grösse. Die Erklärung dieser Differenz liegt wohl in dem Umstande, dass Sachssendahl das Gefrieren und Aufthauen wenigstens noch ein mal wiederholte, was Hammarsten, wenn ich nicht irre, nicht gethan hat. Es ist wegen der verhältnissmässig unbedeutenden, im filtrierten Plasma wirkenden fermentativen Kräfte verständlich, dass durch das Gefrieren und Wiederaufthauen, als mächtig coagulierend wirkenden Faktor, der kolloidale Faserstoff in den Anfangsstadien seiner Entwickelung gefällt wird, als ein sehr unfertiger Faserstoff, der der Globulinstufe noch sehr nahe steht und demgemäss sich auch noch sehr leicht in Alkalien löst. Die Wiederauflösung von Hammarstens feinen Fällungen dürfte sich dem-

[1]) Pfl. Arch. Bd. XIX, p. 613—622.

nach wohl dadurch erklären, dass die alkalischen Bestandtheile des Plasma beim Erwärmen relativ überschüssig wurden, und es fragt sich ob dabei nicht auch eine Umwandlung in Alkalialbuminat stattgefunden hatte.

Aber die Versuche von Sachssendahl lassen erkennen, dass das Gefrieren und Wiederaufthauen nicht blos etwa als gewaltig coagulierender Faktor auf den präformierten kolloidalen Körper wirkt, wie das von der Kieselsäure gilt, sondern dass diese Procedur in demselben Sinne und kaum weniger mächtig auch die Entstehung jenes Körpers durch fermentative Umwandlung des globulinartigen Gerinnungssubstrats resp. diejenigen chemischen Akte, welche der Umwandlung vorausgehen und sie bedingen, also vor Allem den Vorgang der Fermententwickelung, beeinflusst. Wir haben an mehrfachen Beispielen gesehen, dass Einflüsse, welche in den Vorgang der Coagulierung des kolloidalen Faserstoffes fördernd oder hemmend eingreifen, qualitativ in demselben Sinne auch auf den Vorgang der Prothrombinspaltung wirken. Von der Ausgiebigkeit der Prothrombinspaltung hängt aber die Menge des freigewordenen Thrombins und damit die Energie der fermentativen Umwandlung ab. Sachssendahls Versuche zeigen uns, welchen Unterschied es für den Effekt des Gefrierens und Wiederaufthauens macht, ob die betreffende Flüssigkeit farblose Elemente enthält oder nicht; seine Annahme, dass die Leukocyten durch die Vorgänge des Gefrierens und Wiederaufthauens zerstört werden, wurde später von Ed. v. Samson-Himmelstjerna als richtig erwiesen. Dieser fand, dass sowohl in dem ungeronnenen, in $MgSO_4$lösung aufgefangenen als in dem defibrinierten Katzenblut die farblosen Elemente schon nach dem ersten Gefrieren und Wiederaufthauen nur noch vereinzelt vorkamen; nach dem zweiten Male waren sie fast ganz, nach dem dritten aber spurlos verschwunden.[1])

[1]) Experimentelle Studien über das Blut in phys. und pathol. Beziehung. Inaug.-Abh. Dorpat 1882. p. 15.

Man braucht nun aber nur den Verlauf der Gerinnung des nicht filtrierten mit demjenigen des filtrierten Plasmas zu vergleichen, um den eminenten Einfluss wahrzunehmen, welchen die farblosen Elemente des Blutes, die ja gleichfalls während der Gerinnung zum grösseren Theil untergehen, auf den Akt der Thrombinentwickelung und folglich auch auf den ganzen Gerinnungsvorgang ausüben. Was im filtrierten Plasma im Lauf von 1—3 Tagen geschieht, so dass Thrombinentwickelung und Thrombinzerfall Hand in Hand mit einander gehen und deshalb auch der Thrombingehalt der Flüssigkeit stets nur ein geringer bleiben kann, das wird im nicht filtrierten Plasma auf eine Zeit von einigen Minuten zusammengedrängt. Nun beweist aber schon das, was nach einem paarmaligen Gefrieren- und Wiederaufthauenlassen im filtrierten Plasma geschah, dass diese Procedur die Prothrombinspaltung einleitete, denn wenn die Gerinnung hier auch keine sehr ausgiebige war, so trat sie doch schon während des Aufthauens, also bei einer Temperatur von 0° ein; das setzt doch aber voraus, dass eine Thrombinentwickelung und Thrombinwirkung bis zu einem gewissen Grade stattgefunden hat, wenn ich es auch als möglich zugeben muss, dass der in die Augen fallende Effekt des Gefrierens und Wiederaufthauens viel mehr auf der coagulierenden als auf der prothrombinspaltenden Wirkung dieser Procedur beruht. Wenn sich nun aber wieder zeigt, dass bei der unter der Einwirkung dieser Procedur stattfindenden Gerinnung in Hinsicht auf ihren Verlauf, insbesondere auf dessen Geschwindigkeit, derselbe Unterschied zwischen dem leukocytenreichen und dem leukocytenarmen Plasma besteht, wie bei der gewöhnlichen, bei Zimmertemperatur stattfindenden Gerinnung, so wird man auch wohl kaum anders können, als den farblosen Blutkörperchen dort denselben die Spaltung des Prothrombins in hohem Grade begünstigenden Einfluss zuzuerkennen, wie hier, wenn wir auch noch nicht anzugeben wissen, worin dieser Einfluss besteht.

Diese Schlussfolgerung wäre falsch, wenn sich direkt nach-

weisen liesse, dass das Gefrieren und Wiederaufthauen zwar in hohem Grade coagulierend auf den kolloidalen Faserstoff wirkt (denn nur dieser, nicht aber die Globuline werden auf diese Weise in der unlöslichen Modifikation gefällt), dass aber eine Einwirkung auf das Prothrombin, die zur Thrombinentwickelung führt, dabei gar nicht stattfindet. Der beim Wiederaufthauen sich ausscheidende Körper wäre also seiner Entstehung nach gar nicht als eigentlicher Faserstoff anzusehen, sondern es würde durch das Gefrieren und Aufthauen auf irgend eine andere Art, ohne Mitwirkung des Ferments, aus dem Substrat der Faserstoffbildung ein kolloidaler Eiweisskörper erzeugt werden, der nun durch die combinierte Wirkung der krystalloiden Bestandtheile der Flüssigkeit und jener Procedur in der unlöslichen Modification, als faserstoffähnliche Substanz ausgeschieden würde, wie etwa durch Sieden einer energisch dialysierten, bis auf minimale Spuren ihrer salzigen Bestandtheile beraubten Albuminlösung ein stark opalisierender Eiweisskörper aus dem Albumin entsteht, welcher durch nachträglichen Salzzusatz, wie Rosenberg nachgewiesen hat, als in Wasser unlösliche Modification gefällt wird.[1]) Indess wäre diese Erklärungsweise doch eine rein hypothetische, und ich meine schon die Thatsache der energischen Mitwirkung der farblosen Elemente auch bei der unter der Einwirkung des Gefrierens und Wiederaufthauens stattfindenden Gerinnung spricht dafür, dass man es hierbei mit einer Faserstoffgerinnung im wahren Sinne des Wortes, als einem in erster Instanz fermentativen Vorgang zu thun hat.

Nur eine Beobachtung, die auch schon von Sachssendahl gemacht worden ist, könnte noch zur Begründung der soeben als hypothetisch bezeichneten Annahmen angeführt werden; nachdem nämlich die Gerinnung beim Wiederaufthauen ihr Ende erreicht, findet man das betreffende Serum in fermentativer Hinsicht fast unwirksam. Trotzdem aber kann die Gerinnung doch fermenta-

[1]) A. Rosenberg, a. a. O. p. 34, 35.

tiver Natur gewesen sein. Ich habe nämlich schon bei mehrfacher Gelegenheit betont, dass Einflüsse, welche die Faserstoffgerinnung beschleunigen, zugleich den Zerfall des Ferments begünstigen. So macht es z. B. für die Wirksamkeit des Blutserums einen grossen Unterschied ob die Gerinnung bei Zimmertemperatur oder etwa bei 35 ° erfolgte; von Pferdeblutplasma erhält man in letzterem Falle ein fast unwirksames Serum. Es giebt aber nichts, was den Gerinnungsvorgang so mächtig erregt und beschleunigt, wie das Gefrieren und Wiederaufthauen; selbst die Wirkung der Wärme lässt sich damit nicht vergleichen. Man bedenke, dass die Gerinnung *während des Aufthauens*, also bei einer Temperatur von 0 ° erfolgt. Nun lässt sich aber doch unmöglich behaupten, dass diese Temperatur an sich in so gewaltiger Weise die Gerinnung begünstigt, vielmehr ist es wohl richtiger zu sagen, dass sie *trotz dieser Temperatur* in Folge des Gefrierens und Wiederaufthauens eintritt; welche mächtige gerinnungsbefördernde Einflüsse müssen also durch diese Procedur wachgerufen werden, um unter solchen Umständen die Faserstoffbildung und -Ausscheidung herbeizuführen; dieselben Einflüsse dürften aber dann auch den raschen Zerfall des Ferments, nachdem es gewirkt hat, bedingen.

Wie sollen wir uns nun aber diese Wirkung des Gefrierens und Wiederaufthauens erklären? Mir scheint nichts anderes übrigzubleiben, als die Annahme, dass sie durch den Wechsel des Aggregatzustandes, den Uebergang aus dem tropfbar flüssigen in den festen oder aus dem festen in den tropfbar flüssigen Zustand, — oder vielleicht durch beides — bedingt wird. Zellen vertragen diesen Wechsel nicht, sie zergehen dabei; Pflanzen, auf welche man nach einem kalten Winter allzuplötzlich die Sonne intensiv einwirken lässt, gehen zu Grunde, wie die Rosenzüchter es leider allzuoft erleben müssen. Wenn unter der Einwirkung dieses Wechsels die Form der Zelle schwindet, so dürfte er doch auch in mehr oder weniger intensiver Weise den Gleichgewichtszustand der labilen

Atomcomplexe stören, mit welchen wir es bei der Faserstoffgerinnung zu thun haben.

6. Es ist bekannt, dass eine Lösung der kolloidalen Kieselsäure beim Trocknen im Vakuum zunächst gerinnt, um schliesslich einen absolut unlöslichen Rückstand zu hinterlassen. Eine durch Dialyse ihres Salzgehaltes beraubte Ei- oder Serumalbuminlösung lässt im Vakuum einen in Wasser leicht löslichen Rückstand zurück; kocht man sie aber bevor man sie ins Vakuum bringt und ist zugleich die Dialyse energisch genug gewesen, um sie soweit von den Salzen zu befreien, dass in der Siedhitze weder eine Fällung noch auch nur eine sichtbare Trübung, sondern nur eine Opalescenz entsteht[1]), wie sie mehr oder weniger allen in Lösung befindlichen, durch krystalloide Beimengungen fällbaren kolloidalen Stoffen zukommt, so ist der Rückstand in Wasser unlöslich, nur löslich in concentrierter Natronlauge und in kochender Essigsäure. Dies gilt nach meinen Erfahrungen im strengsten Sinne von den gekochten salzfreien Eialbuminlösungen, während der Rückstand des gekochten salzfreien Serumalbumins in Wasser noch theilweise löslich war, vielleicht weil ich ihn nicht gründlich genug im Vakuum getrocknet hatte.[2])

Wie zu erwarten war, fand nun auch Kieseritzky, dass beim Einengen einer Lösung des kolloidalen Faserstoffs im Vakuum stets ein Moment eintrat, in welchem die Flüssigkeit gerann, früher nach einem kleinen Salzzusatz als ohne denselben. Aber auch im letzteren Falle kam es regelmässig zur Gerinnung; es ist hierbei zu berücksichtigen, dass diese Lösungen doch nicht ganz salzfrei dargestellt werden können, und dass die Concentrationserhöhung im Vakuum sowohl den kolloidalen Faserstoff als die beigemengten

[1]) Ueber die Methode der Reinigung der Albuminlösungen bis zur Erfüllung der im Text angegebenen Forderungen verweise ich auf die bereits citierte Dissertation von A. Rosenberg.

[2]) Beiträge zur Anat. u. Physiol. Prof. C. Ludwig gewidmet, p. 111, 112.

Salze betrifft. Nach beendetem Trocknen fand Kieseritzky, dass ein Theil des Rückstands sich in Wasser auflöste, der Rest aber quoll nur auf und schwamm als weicher Klumpen in der Flüssigkeit (Faserstoff). Der lösliche Theil des Rückstands bestand offenbar aus Paraglobulin, denn sämmtliche Lösungen Kieseritzkys enthielten von der Darstellung her reichliche Quantitäten dieses Körpers; die Auflösung des Paraglobulins besorgte der ursprüngliche Alkaligehalt der Flüssigkeit.

7. Filtriert man eine nicht zu verdünnte Kieselsäurelösung so erleidet man Verluste an Substanz, die um so merklicher werden, je stärker die Opalescenz sich entwickelt hat; Kieseritzky benutzte zu diesen Versuchen ein aus einer doppelten Papierlage geschnittenes Filtrum. Die Verluste waren aber nicht sehr bedeutend, im Mittel mehrerer Bestimmungen betrugen sie 6 % der trockenen Substanz. Da er augenblicklich über wenig Material verfügte, so verboten sich bei den mit kolloidalem Faserstoff anzustellenden Versuchen, die Trockenbestimmungen von selbst; er suchte sich deshalb durch Schätzung der Niederschläge, welche er durch Essigsäure und Ferrocyankalium in den betreffenden Mutterflüssigkeiten und deren Filtraten erzeugte, zu helfen.

Filtrierte er nun einen Theil seiner gesättigt alkalischen Globulinlösungen durch ein doppeltes oder dreifaches Filtrum, so bewirkten die genannten Reagentien im Filtrat kaum einen geringeren Niederschlag als in einer der Filtratprobe gleichen Menge der Mutterflüssigkeit. Führte er aber nun in der letzteren durch einen Thrombinzusatz die Umwandlung herbei, wartete ab, bis die Lösung nach einem geringen Kochsalzzusatz gerann, und filtrierte jetzt, so erzeugten Essigsäure und Ferrocyankalium im Filtrat einen viel unbedeutenderen Niederschlag als in der Mutterflüssigkeit; der Unterschied war so in die Augen fallend, dass von mit Wägungen verbundenen Versuchen, da es sich nur um Feststellung der Thatsache und nicht um genauere quantitative Bestimmungen handelte, abgesehen werden konnte. Der Niederschlag in der Lösung des

kolloidalen Faserstoffs war noch viel geringer, nachdem er sie unter Quecksilberdruck durch einen Ureter hatte transsudieren lassen.[1])

8. Nach dem Coagulationsbestreben und nach der Schnelligkeit der Gerinnung beurtheilt, werden wir eine Kieselsäurelösung von 5—6 % schon als eine concentrierte bezeichnen dürfen; aber eine Lösung des kolloidalen Faserstoffs verhält sich wie eine concentrierte Kieselsäurelösung schon wenn sie nur 1—1 ½ procentig ist. Sie gerinnt schon nach sehr geringen Salzzusätzen ausserordentlich schnell, ja häufig bedarf es derselben gar nicht, da die von den gefällten Globulinen eingeschlossenen geringen Salzmengen zur Coagulierung hinreichen.[2]) Ist sie reich an den übrigen aus der Blutflüssigkeit stammenden Einschlüssen, was immer der Fall ist, wenn man die aus dem verdünnten Plasma gefällten Globuline sofort, ohne Wiederholung der Reinigungsprocedur zur Herstellung der betreffenden alkalischen Lösungen benützt, so lässt sie sich wegen des sich entwickelnden Ferments bei Zimmertemperatur höchstens 1—2 Stunden flüssig erhalten und man ist genöthigt sie stark zu verdünnen, um ihr eine grössere Haltbarkeit zu verleihen. Es ist dabei ein Glück, dass der Faserstoff ein so voluminöser Körper ist, dass er in den relativ kleinsten Mengen immer noch ein deutliches gallertiges Gerinnsel giebt. Ein solches erhält man zum Beispiel jedes Mal, wenn man Pferdeblutplasma mit 200 Volumen Plasma verdünnt, sofern man unter diesen Umständen die Gerinnung hervorzurufen versteht. Zur Darstellung einer in diesem Sinne concentrierten Lösung der Plasmaglobuline gelangt

[1]) Kieseritzky a. a. O. p. 15, 16, 55. 56.

[2]) Die Globuline werden durch wiederholtes Fällen und Wiederauflösen in stark verdünnter Lösung zwar immer salzärmer aber nicht ganz salzfrei. Kieseritzky fand nach viermaliger Wiederholung dieser Procedur in der Globulinasche Phosphorsäure und Kalk. Als er aber etwas chlorfreies Barytwasser hinzugesetzt und dann getrocknet und verbrannt hatte, fand er in der Asche auch noch Spuren von Chlor. A. a. O. p. 39, 40.

man meist schon, wenn man sie nach stattgehabter Fällung in einer dem ursprünglichen Plasmavolum gleichen Wassermenge mittelst eines Alkalizusatzes auflöst, sicher wenn man das Wasser noch sparsamer verwendet.

9. Kieseritzky stellte ferner fest, dass die verschiedenen Salze nicht mit gleicher Kraft die Kieselsäure coagulieren. Er prüfte in dieser Hinsicht indess nur einige Natronsalze und stellte in Betreff ihrer bezüglichen Wirksamkeit die folgende, im abnehmenden Sinne geordnete Reihe auf: Kochsalz, salpetersaures Natron, schwefelsaures Natron, doppelt- und einfachkohlensaures Natron. Ich habe diese Versuche auch über einige andere Neutralsalze ausgedehnt und bin dabei auf solche gestossen, die die Kieselsäure viel intensiver coagulierten, als das Kochsalz. Mit dem kolloidalen Faserstoff habe ich dieselbe Erfahrung gemacht, aber die Salze bilden hier, nach ihrer Wirksamkeit geordnet, eine andere Reihe, als bei der Kieselsäure. Da diese Verhältnisse uns später von Wichtigkeit sein werden, so will ich hier noch etwas bei meinen die Kieselsäure betreffenden Versuchen verweilen.

Ich zersetzte 1 Vol. einer sehr concentrierten, mit dem gleichen Volum Wasser verdünnten Wasserglaslösung mit 1 Vol. concentrierter Salzsäure, welche mit 3 Vol. Wasser verdünnt war und brachte die Flüssigkeit auf den Dialysator. Die Dialyse dauerte 5 Tage, der Wasserwechsel fand alle 2 Stunden im Laufe des Tages statt, die Dicke der Flüssigkeitsschicht in Dyalisator betrug 2 mm. Am 2. und 4. Tage wurden je 2 Ccm. concentrierter Salzsäure der Flüssigkeit im Dialysator hinzugefügt. Bei der Herausnahme aus demselben reagierte die durch Wasseraufnahme und durch Substanzverlust stark verdünnte Flüssigkeit sehr schwach sauer. Sie enthielt 1,15 % Kieselsäure. Da ich zuerst die Wirkung der Salze bei neutraler Reaktion der Lösung vergleichsweise kennen lernen wollte, so neutralisierte ich sie mit verdünnter Natronlauge so genau, als es mir möglich war, mischte sie in mehreren Proben mit dem gleichen Volum der nachfolgend angegebenen 15 procen-

tigen Salzlösungen zusammen und bestimmte die bis zum Eintreten der gallertigen Gerinnung erforderliche Zeit. Die Resultate ersieht man aus der folgenden Zusammenstellung:

Mit $NaCl$, Gerinnung nach 4 Stunden,
„ $CaCl_2$, „ „ $1^1/_2$ „
„ $SrCl_2$, nach 5 Tagen nicht geronnen,
„ $BaCl_2$, Gerinnung nach 8 Stunden,
„ $MgCl_2$, „ „ $^1/_4$ Stunde.

Als Beispiel für die hemmende Wirkung der Säure bei der gegebenen geringen Concentration und für den unter diesen Umständen sich sehr vergrössernden Unterschied in den Salzwirkungen will ich nur erwähnen, dass die nicht neutralisierte Kieselsäure nach Kochsalzzusatz während fünftägiger Beobachtung sich vollkommen flüssig erhielt, während Chlorcalcium ihre Gerinnung in 2 Stunden 35 Minuten herbeiführte. Beide Zusätze fanden in dem schon angegebenen Verhältnisse statt.

Von der dialysierten Kieselsäurelösung wurde der Rest von 115 Ccm. (ohne die schwach saure Reaktion abzustumpfen) im Vacuum über Schwefelsäure auf ein Volum von 30 Ccm. eingeengt, wobei ein Theil der Substanz sich ausschied, darauf wurde sie noch 5 Stunden lang, behufs Verminderung des im Vacuum relativ gewachsenen Salzgehaltes, dialysiert. Sie enthielt jetzt 3,00 % Kieselsäure und reagierte schwach sauer. Die Flüssigkeit wurde nun in zwei Hälften getheilt, die eine Hälfte so genau als möglich neutralisiert und mit beiden die obigen Gerinnungsversuche in denselben Mischungsverhältnissen wiederholt, indess nur mit $NaCl$, $CaCl_2$ und $MgCl_2$. Ich fand:

	Schwach sauer	neutral
Mit $NaCl$,	Gerinnung in $2^1/_2$ Stunden	in 25 Minuten
„ $CaCl_2$	„ „ 28 Minuten	„ 10 „
„ $MgCl_2$	„ „ 4 Minuten	„ 3 „

Erwärmen an sich übte keinen Einfluss aus, weder auf die schwach saure noch auf die alkalische Lösung, als ich sie aber mit den obigen drei Salzen in angegebenem Verhältnisse versetzt hatte, so gerannen alle drei Präparate bei raschem Erwärmen so plötzlich, dass es kaum möglich war, die Zeitunterschiede wahrzunehmen; ebenso als ich die Kieselsäurelösung durch Zusatz verdünnter Natronlösung so weit alkalisch gemacht hatte, dass die Reaktion durch Lakmuspapier grade eben constatiert werden konnte; es genügte bei dieser Reaktion, um die Gerinnungszeiten auf Sekunden schrumpfen zu machen, das Verhältniss von $^1/_4$ Vol. Salzlösung und 1 Vol. Kieselsäurelösung. Als ich aber die schon schwach saure Kieselsäurelösung noch weiter ansäuerte (0,05 Ccm. $^1/_2$ Normalsalzsäure auf 12,5 Ccm. Kieselsäurelösung), so gingen die Gerinnungszeiten für das Chlormagnesium und Chlorcalcium wieder weit auseinander, ersteres coagulierte die Lösung in $1^1/_2$, letzteres in 28 Stunden; von den übrigen Salzen habe ich wegen ihrer zu langsamen Wirkung bei dieser Versuchsanordnung ganz abgesehen.

So lange die Chemie nichts weniger als den Beweis erbracht hat, dass diese auffallende Einwirkung gewisser Erdsalze auf die kolloidale Kieselsäure auf Silicatbildung beruhe, glaube ich mich berechtigt, die Möglichkeit im Auge zu behalten, dass es sich hierbei um dieselben dunklen Beziehungen zwischen krystalloiden und kolloidalen Substanzen handelt, wie bei den Alkalisalzen; ihrem äusseren Ansehen nach unterscheiden sich die bezüglichen Gerinnsel in nichts von einander. Uebrigens bestehen ja auch Unterschiede in der coagulierenden Kraft der Alkalisalze, bei welchen von der Bildung unlöslicher Silicate doch keine Rede sein kann.

Wenn aber jemand das allgemeine feindselige Verhalten der Krystalloid- zu den Kolloidsubstanzen gar nicht berücksichtigt, wenn er die äusseren Umstände, unter welchen er die ersteren wirken lässt, wie namentlich die Reaktion, und ebenso die für

den Eintritt des Erfolges erforderlichen Zeiten nicht beachtet, so könnte er leicht dahin gelangen zu behaupten, das Chlormagnesium übe eine durchaus specifische Wirkung auf die kolloidale Kieselsäure aus.

Was den kolloidalen Faserstoff anbetrifft, so giebt es auch für ihn Salze, welche ihm mit viel grösserer Gewalt als alle anderen den festen Aggregatzustand aufzwingen und zu welchen man deshalb unter ungünstigen äusseren Umständen, wenn man dieselben nicht in günstige zu verwandeln weiss, seine Zuflucht nimmt; es ist dabei mit Bezug auf die schwächer wirkenden Salze immer im Auge zu behalten, dass man bei diesem Versuchsobjekt die Beobachtung nicht, wie bei der Kieselsäure, über Wochen und Monate sich erstrecken lassen kann. In erster Reihe stehen hier unter den energisch coagulierend wirkenden Neutralsalzen die Kalksalze. Die erwähnten ungünstigen äusseren Umstände, die dabei in Betracht kommen, weil sie durch die gewöhnlich geübten Methoden der Reindarstellung des Gerinnungssubstrates selbst herbeigeführt werden, sind relativ zu hohe Alkalescenz und noch häufiger zu grosse Salzüberschüsse in den betreffenden Lösungen; man schaffe in dieser Hinsicht Wandel und die übrigen Salze leisten dasselbe wie die Kalksalze. Natürlich ist das nicht ganz wörtlich zu nehmen, aber es kann dem Forscher mit Rücksicht auf seine Zeit doch wahrhaftig einerlei sein, ob eine von ihm beobachtete Faserstoffausscheidung in 2 Sekunden oder in 2 Minuten stattfindet; die Unterschiede sind bei richtigem Verfahren nicht einmal so gross. Ich habe jene Uebelstände stets beseitigt resp. ich habe meine Methoden der Reindarstellung so eingerichtet, dass sie gar nicht eintraten, deshalb habe ich auch mit Chlornatrium stets dasselbe, wie Andere mit Kalksalzen erreicht. Dass die Kalksalze coagulierend wirken, habe ich nie bezweifelt. Ich verweise in dieser Hinsicht nur auf die Arbeit von Ph. Strauch[1]); meine

[1]) Ph. Strauch: Controllversuche zur Blutgerinnungstheorie von Dr E. Freund. Inaug.-Abh. Dorpat 1889, p. 33—35.

Auffassung dieser Wirkung wich nur wesentlich von derjenigen anderer Forscher ab.

10. Noch einer die Wirkung concentrierter Neutralsalzlösungen auf den kolloidalen Faserstoff betreffenden Besonderheit, von welcher ich wegen Mangel an Erfahrung nicht weiss, ob sie auch für die Kieselsäure Geltung hat, muss ich hier Erwähnung thun. Sie ist an Blutplasma zu beobachten, ob auch an künstlichen Gerinnungsmischungen, habe ich noch nicht ermittelt. Wahrgenommen wird sie, wenn gewisse Neutralsalze zu zweien gleichzeitig auf das Plasma einwirken. Als Beispiel wähle ich das Kochsalz und die schwefelsaure Magnesia aus. Es ist bekannt, dass jedes dieser beiden Salze, in hinreichender Menge angewandt, die Gerinnung des Plasmas unterdrückt; mit $^1/_3$ Volum einer gesättigten Magnesiumsulfatlösung erzielt man dieses Resultat vollständig, häufig auch mit ebensoviel einer gesättigten Chlornatriumlösung. Ausscheidungen irgend welcher Art aus dem Plasma treten dabei nicht ein. Ebenso bekannt ist es, dass durch noch grössere Zusätze der gesättigten Lösungen dieser Salze, etwa im Verhältniss von 1—$1^1/_2$ Vol. derselben zu 1 Vol. Plasma die Globuline gefällt werden, aber als solche, als Niederschläge, welche sich in verdünnteren Salzlösungen leicht wieder auflösen. Das Auffallende ist nun, dass, wenn die gesättigten Lösungen dieser beiden Salze gleichzeitig auf das Plasma einwirken, sofort oder doch in einigen Minuten Ausscheidungen einer Substanz in Gestalt von Klumpen oder Klümpchen auftreten, welche sich in allen Beziehungen wie fertiger oder annähernd fertiger Faserstoff verhält. Man bemerkt dies jedesmal, wenn man dem Plasma etwa $^1/_3$ Vol. der schwefelsauren Magnesialösung zusetzt und dann zur Mischung das gleiche Volum der Kochsalzlösung hinzufügt, ebenso auch, wenn man die Salze in der umgekehrten Anordnung anwendet. Neben diesen unlöslichen Klumpen werden aber auch zugleich feine in verdünnten Alkalien, verdünnten Säuren und in mässig concentrierten Neutralsalzlösungen lösliche Flöckchen aus-

geschieden, die Hammarsten, der mittelst dieser Combination von Salzen seine Fibrinogenlösungen darstellt, für unveränderte Globulinsubstanz hält. Ich will das nicht bestreiten, aber doch darauf hinweisen, dass, wenn schon ein Theil der Plasmaglobuline in Faserstoff verwandelt worden ist, also das Kolloidalstadium bereits passirt hat, der Zweifel gestattet ist, ob nicht auch der Rest sich schon im Anfang dieses Stadiums befindet; dafür scheint zu sprechen, dass er entschieden schwerer löslich in halbgesättigter Kochsalzlösung ist als der Niederschlag von fibrinogener Substanz, welchen man durch Sättigung eines proplastischen Transsudats mit Kochsalz erhält.

Ich führe hier noch einige Beispiele von Salzen an, die, nach einem Versuch zu urtheilen, in solcher Weise auf das Blutplasma wirken: $NaSO_4$ oder KCl mit NaCl, $MgNO_6$ oder $MgCl_2$ mit $CaCl_2$, aber nicht $MgNO_6$ mit $CaCl_2$, $CaCl_2$ mit NaCl.

Es ist mir bis jetzt unmöglich gewesen, eine Erklärung für diese Erscheinung zu finden. Das Magnesiumsulfat sowohl als das Chlornatrium unterdrücken in gesättigter Lösung, jedes für sich, selbst wenn sie in kleineren Mengen als zu $^1/_3$ Vol. zum Plasma hinzugefügt werden, die Fermententwickelung vollständig resp. wenigstens für sehr lange, die Globuline bleiben deshalb nachweisbar was sie waren; das unmittelbar nach dem ersten Salzzusatz hinzugefügte zweite Salz findet also auch nur sie und jedenfalls keinen kolloidalen Faserstoff vor und doch bewirkt es in auffallend kurzer Zeit eine partielle Coagulierung, was doch wieder sowohl die Fermententwickelung als auch die Fermentwirkung, die Bildung des kolloidalen Faserstoffs voraussetzt. Wie soll man sich vorstellen, dass, während jedes der beiden Salze für sich diese Processe hemmt, beide zusammen sie begünstigen? Denn um eine Begünstigung handelt es sich geradezu im Vergleich mit den Erscheinungen, die man beim normalen Gerinnungsverlauf, am besten am gekühlten Pferdeblutplasma, das man der Zimmertemperatur aussetzt, beobachtet. Hier geht die Bildung des

kolloidalen Faserstoffs ganz allmählich vor sich, wie man an der ebenso allmählichen Abnahme der Löslichkeit der durch Kochsalzpulver gefällten Massen erkennt. Oder soll man sich vorstellen, dass die fibrinogene Substanz nicht blos durch Vermittelung des betreffenden Ferments, sondern auch durch gewisse Salzcombinationen in den unlöslichen Faserstoff übergeführt wird, etwa wie z. B. die Stärke auch nicht blos durch Diastase oder Ptyalin, sondern auch durch verdünnte Schwefelsäure in Zucker umgewandelt werden kann? Oder hat man es hier überhaupt nicht mit Fibrin, sondern mit Pseudofibrin zu thun? Auch durch Siedhitze bei Gegenwart von Salzen wird die fibrinogene Substanz coaguliert. Wir werden dann aber nicht von Fibrin reden.

Ich stehe hier von weiteren Erklärungsversuchen zunächst ab und bleibe beim Thatsächlichen; es ist dies von Wichtigkeit für die Beurtheilung der Versuche, welche zur Erforschung der Gerinnungsfrage angestellt worden sind.

Zur Darstellung von Hammarsten's Fibrinogen wird nach stattgehabter Mischung des Magnesiumsulfatplasmas mit dem gleichen Volum gesättigter Kochsalzlösung die Flüssigkeit centrifugiert, der flüssige Theil vom Bodensatz abgegossen oder abgehebert, die Fibrinklumpen und -Klümpchen werden entfernt, und allmählich und unter Schütteln Wasser zugesetzt, bis sich die feineren Flocken durch Vermittelung des zurückgebliebenen Salzes gelöst haben, dann wird wieder mit dem gleichen Volum gesättigter Kochsalzlösung gefällt, centrifugiert, der Niederschlag in Wasser gelöst und so noch ein drittes Mal. Jedesmal entstehen durch den Kochsalzzusatz Fibrinausscheidungen (ich will sie der Kürze wegen so nennen), man erleidet also Verluste an Substanz; jedesmal lösen sich die übrigbleibenden Flocken in der verdünnten Kochsalzlösung mit einer gewissen Schwierigkeit wieder auf, viel schwieriger als die aus einem proplastischen Transsudat durch

Sättigung mit Kochsalz gefällte fibrinogene Substanz. Dabei ist die Flüssigkeit ganz undurchsichtig; verdünnt man sie mit Wasser, so erscheint sie stark opalisierend und zugleich durchsetzt von trübenden Partikelchen. Man vergleiche hiermit die klaren Flüssigkeiten, welche man durch Auflösen der aus den proplastischen Transsudaten gewonnenen fibrinogenen Substanz in verdünnter Kochsalzlösung erhält, welche eben deshalb sich so vortrefflich zu Gerinnungsversuchen eignen, noch mehr, weil sie absolut nicht das Vermögen von selbst zu gerinnen besitzen, was, wie wir sehen werden, von Hammarsten's Fibrinogenlösungen keineswegs gesagt werden kann.

Ich habe übrigens auch nach Hammarsten's Angabe[1]) den Niederschlag im Centrifugencylinder zwischen Fliesspapier ausgepresst, in Kochsalzlösung von 8 % aufgelöst, wieder centrifugiert u. s. w., ohne indess hierdurch zu anderen Ergebnissen zu gelangen, als bei dem von mir eingehaltenen Verfahren.

Es wird angegeben, dass bei Anwendung dieser Methode das Fällen und Wiederauflösen nur drei Mal stattfinden soll, und mit Recht; denn die Verluste sind so grosse, dass beim vierten Male kaum mehr etwas lösliche Substanz übrig bleibt. Es ist richtig, dass die Trennung des ausgeschiedenen vom flüssigen Theil auf der Centrifuge sehr rasch, in $^1/_2$—$^3/_4$ Stunden, vor sich geht, aber da wegen der Verluste der Niederschlag von löslicher Substanz von Mal zu Male abnimmt, werden deshalb auch die zu seiner Auflösung erforderlichen Wassermengen, wenn man sie nicht überschüssig zusetzen will, von Mal zu Male geringer, so dass das Volum der schliesslich gewonnenen Lösung immer kleiner ist als das des zu ihrer Darstellung benutzten Plasmas; in meinen Versuchen betrug es bestenfalls die Hälfte davon.

Hiermit habe ich einen der Gründe angegeben, die es mir

[1]) Hammarsten: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Deutsche Ausgabe Wiesbaden, J. F. Bergmann 1891, p. 47.

unpraktisch erscheinen liessen, mich bei meinen Versuchen dieser Methode zu bedienen. Ich fälle diese Globuline aus 12-, gewöhnlich 15fach verdünntem, gekühltem Pferdeblutplasma zunächst mit Kohlensäure und wiederhole die bekannte Procedur des Auflösens und Kältens dann noch einigemal; dabei löse ich die Niederschläge stets in demselben Wasservolum wieder auf, welches zur Verdünnung des Plasmas gleich anfangs angewendet wurde. Im verdünnten Plasma selbst die Fällung mit titrierter Essigsäure zu bewirken ist nicht rathsam, da die gegebene Alkalescenz desselben unbekannt ist. Ich bewirke deshalb die erstmalige Fällung der Globuline durch Durchleiten von Kohlensäure, oder ich stumpfe die alkalische Reaktion des Plasmas mit verdünnter Essigsäure nahezu ganz ab, verdünne dann und leite nun Kohlensäure hindurch; die Globuline sind zwar in geringem Grade auch in kohlensaurem Wasser löslich, aber die Gefahr, auf diese Weise durch einen Ueberschuss der Säure Verluste zu erleiden, ist bei der Essigsäure viel grösser. Nachdem ich diesen ersten Niederschlag zur Entfernung der Plasmabestandtheile noch 1 oder 2mal mit Wasser gewaschen, bewirke ich von nun an die Wiederauflösung und Fällung mit 10fach verdünnter Normalnatron- resp. Normalessigsäurelösung, was viel bequemer ist als das Arbeiten mit Kohlensäure. Schliesslich bringe ich den Niederschlag, den ich vorher mindestens 24 Stunden sich absetzen lasse, auf ein Filtrum und wasche ihn dann noch mehrfach mit Wasser aus. Das Filtrieren geht zwar langsam vor sich, aber die Flüssigkeit tropft vollständig ab und das Filtrat ist wasserklar. Ich bediene mich hierzu des Papieres von Schleicher und Schüll, No. 596. Ein trübes Filtrat mit bald darauf erfolgender Verstopfung des Filtrums kommt nur vor, wenn man dem Niederschlag nicht Zeit gegeben hat, sich zusammenzuballen; will man dies schnell erreichen, so benutzt man die Centrifuge.

Um an einem Beispiel darzulegen, wie gross der Unterschied

in den Verlusten ist, die man bei Anwendung dieser beiden Methoden erleidet, führe ich folgenden Versuch an:

Von 150 Ccm. Pferdeblutplasma (nicht filtriert) wurden 100 Ccm. nach der Methode von Hammarsten und nur 30 Ccm. nach meiner Methode behandelt; der Rest wurde zur Faserstoffbestimmung benutzt: ich erhielt 0,763 % Faserstoff.

Nach dreimaligem Fällen und Wiederauflösen nach Hammarsten gewann ich nur 35 Ccm. Globulinlösung; die nach der von mir gewählten Methode, ebenfalls durch dreimaliges Fällen und Wiederauflösen, gereinigte Substanz aber löste ich durch Vermittelung von höchstverdünnter Natronlauge absichtlich nicht in 30 sondern in 42 Ccm. Wasser auf. Dann wurden beide Lösungen in gewogenen Tiegeln getrocknet, gewogen, verascht und die Asche gewogen. Ich will bei Angabe der Resultate die beiden schliesslich erhaltenen Lösungen als die salzreiche und die salzarme von einander unterscheiden.

Die salzreiche Lösung enthielt 0,342 % organische Substanz und 5,80 % Salz (überwiegend natürlich Kochsalz). Die Salze verhalten sich also zur organischen Substanz wie 16,9 zu 1.

Die salzarme Lösung enthielt 0,886 % organische Substanz, der Salzrückstand war nicht sicher zu bestimmen.

In beiden Fällen können wir die organische Substanz, indem wir von den Einschlüssen absehen, als Globulinsubstanz ansehen.

Da beide Lösungen als solche zu Versuchszwecken benutzt werden, so mache ich nicht blos auf den Unterschied im Globulingehalt aufmerksam, sondern auch auf den ungeheuren Salzüberschuss in der salzreichen Lösung.

Den richtigen Maassstab aber für den Vergleich der bei Anwendung dieser beiden Methoden stattgehabten Globulinverluste gewinnt man erst, indem man berücksichtigt, dass die salzreiche Lösung von 100 Ccm. Plasma nur 35 Ccm., die salzarme aber von 30 Ccm. Plasma 42 Ccm. darstellt. Bezieht man nun die für die organische Substanz eben angegebenen Werthe auf 100 Ccm. Plasma,

so befand sich von den im Plasma enthaltenen Globulinen in der salzreichen Lösung ein Rest von 0,120 %, in der salzarmen aber von 1,240 %.

Indess die Kleinheit der Masse des in der salzreichen Lösung enthaltenen Gerinnungssubstrates ist keineswegs der Uebelstand, auf den ich hier Gewicht legen möchte, weil der Faserstoff ein so ausserordentlich voluminöser Körper ist, dass man an noch viel kleinern Quantitäten dieses Substrates den Process seiner Gerinnung studieren kann; wenn man nur immer Pferdeblut in hinreichender Menge sich zu verschaffen in der Lage ist, so würde man sich vielleicht nur bei Wägungen u. dgl. durch die grossen Verluste, welche diese Methode mit sich bringt, gestört fühlen. Viel schlimmer ist der riesige Salzüberschuss, weil er wie wir sehen werden, zu Täuschungen über die Bedeutung und die Natur von Einwirkungen führt, welche die Gerinnung in solchen salzreichen Globulinlösungen herbeiführen, — oder auch nicht herbeiführen.

Die Fällungen und Wiederauflösungen nach meiner Methode kann man ausführen, so oft man will, ohne dass die Niederschläge deshalb ihren globulinartigen Charakter im mindesten einbüssen; das ist mit Rücksicht auf ihre Reinigung von grosser Wichtigkeit. Schliesslich hat man die Wahl die gereinigte Substanz, je nach den Versuchszwecken, in alkalische oder in salzige Lösung zu bringen, wobei man in der Lage ist, die genau zureichende Menge des betreffenden Lösungsmittels abzumessen, ebenso aber auch die Ueberschüsse, die man noch etwa hinzufügen will. Die zur vollkommenen Auflösung erforderliche Salzmenge ist, wie bei den Globulinen des Serums und der Transsudate, immer sehr gering, es genügt ein Kochsalzgehalt von 0,2—0,3 %, während man bei der anderen Methode, wie wir sehen werden, der grossen Salzmengen nicht entrathen kann, sollen gewisse Versuche ihren Zweck im Sinne ihrer Veranstalter erreichen.

Der wesentlichste Unterschied zwischen beiden Methoden liegt aber darin, dass man durch wiederholtes Fällen und Wiederauflösen

mit dem 12—15 fachen Volum schwach sauren oder schwach alkalischen Wassers, zumal man diese Manipulation unbegrenzt oft wiederholen kann, die darzustellende Substanz viel energischer von verunreinigenden Einschlüssen zu befreien vermag, als durch eine dreimalige Fällung und Wiederauflösung mit nur dem gleichen Volum Kochsalzlösung. Hierbei kommen nicht sowohl die Salze (vorzugsweise Kalksalze) als vielmehr die zymoplastischen Substanzen und das Prothrombin in Betracht, die niemals ganz in den Niederschlägen fehlen. Auf das letztere werde ich später zurückkommen, in Betreff der ersteren aber bemerke ich im Hinblick auf die beiden Fällungsmethoden, dass sie in concentrierten Salzlösungen absolut unlöslich, in Wasser aber wenigstens theilweise und in Alkalien vollkommen löslich sind. Trotzdem ist es unmöglich sie auch bei Anwendung meiner Methode vollkommen fortzuschaffen, aber was die Globulinniederschläge davon enthalten ist schon nach nur dreimaligem Fällen und Wiederauflösen äusserst wenig, verglichen mit denjenigen Mengen, die sich in dem sog. Hammarsten'schen Fibrinogen befinden. Man kann sich davon leicht überzeugen, wenn man die nach beiden Methoden gewonnenen Lösungen durch Zusatz von Thrombin oder durch irgend ein anderes der später anzugebenden Mittel zum Gerinnen bringen, den Faserstoff, der doch seinerseits nun wieder einen Theil der in der betreffenden Lösung enthaltenen zymoplastischen Substanzen einschliesst, herausnimmt, ein paar Tage lang mit starkem Alkohol extrahiert, filtriert und das Filtrat auf dem Dampfbade abdunstet. Es bleibt der bekannte gelbbräunliche Rückstand zurück, an dessen zymoplastischer Natur gemäss seinen Wirkungen, nicht zu zweifeln ist. Den Unterschied in der Quantität dieses Rückstands des Alkoholextrakts beider Fibringerinnsel wird jeder leicht wahrnehmen; und doch ist die Masse der nach meiner Methode aus dem Plasma abgeschiedenen Globuline die viel grössere. Trotzdem üben auch die in meinen Präparaten enthaltenen Spuren mit der Zeit ihre Wirkung auf das miteingeschlossene Prothrombin aus und es

kommt schliesslich doch zu Gerinnungen, wenigstens zu beginnenden. Es ist deshalb, wenn man eine absolut haltbare Lösung herstellen will, nicht gerathen nach beendeter Reinigung das Globulin in der gerade zureichenden Kochsalzmenge aufzulösen, aber der zur Unterdrückung der Gerinnung erforderliche Ueberschuss ist unter diesen Umständen klein, verglichen mit den Quantitäten, die in der Fibrinogenlösung von Hammarsten nach beendetem Centrifugieren enthalten sind.

Prinzipiell sollte es möglich erscheinen aus den nach der von mir geübten Methode gereinigten Globulinen Lösungen herzustellen, welche sich selbst überlassen keine Spur von Gerinnungserscheinungen zeigten, wenn man die Auflösung durch Alkalien bewirkt und diese zugleich so genau abmessen könnte, dass sie die nebenbei vorhandenen Spuren von Prothrombin zerstören ohne doch den Eiweisskörper in Alkalialbuminat zu verwandeln. Dies ist mir zuweilen auch gelungen und ich habe so gerinnbare Lösungen erhalten, die wie die proplastischen Transsudate, sich selbst überlassen vollkommen flüssig blieben, in jedem Augenblicke aber durch einen Thrombinzusatz coaguliert werden konnten. Aber es herrscht hierbei durchaus der Zufall, da man keinen Maassstab hat, um den zweckentsprechenden Alkalizusatz für den einzelnen Fall zu bestimmen. Meist wird sehr bald auch der Eiweisskörper vom Alkali angegriffen.

Wenn man den in einem gemessenen Volum Plasma nach dem Verdünnen mit Wasser durch Fällen mit Kohlensäure oder verdünnter Essigsäure erhaltenen Niederschlag, nachdem man ihn allenfalls noch ein paarmal mit Wasser gewaschen, ohne weiteres von der Flüssigkeit abfiltriert und in einem dem Plasma gleichen oder noch geringeren Volum Wasser mit Hülfe der gerade zureichenden Quantität Alkali oder Kochsalz auflöst, so erhält man Lösungen, welche wegen ihres Reichthums an Prothrombin und an zymoplastischen Substanzen und weil zugleich die physiologischen, die Prothrombinspaltung hemmenden

Plasmabestandtheile[1]) wenigstens zum grössten Theil in der Waschflüssigkeit zurückgeblieben sind, sogar bedeutend schneller gerinnen, als das Plasma selbst. Insbesondere gilt dies von den salzigen Lösungen, aber auch bei den gesättigten alkalischen habe ich die Gerinnung schon im Laufe einer halben Stunde ablaufen sehen; sie stellen eben bei dem angegebenen Wassergehalt concentrierte Lösungen dar und deshalb genügen schon die aus dem Plasma mit herübergenommenen Salze, um den rasch sich bildenden kolloidalen Faserstoff zu coagulieren; durch den Zusatz von ein paar Zehntelprocenten Kochsalz wird man den Process meist noch sehr beschleunigen. Bei solchen Lösungen hat man natürlich nicht nöthig mit dem Alkalizusatz gar zu ängstlich zu verfahren. Für manche Versuchszwecke sind sie sehr geeignet. —

[1]) A. Schmidt „Zur Blutlehre", Kap. XVII.

Zweites Kapitel.

Ueber die Abspaltung des Thrombins von seiner unwirksamen Vorstufe (Prothrombin) und die Beeinflussung dieses Vorgangs durch die Neutralsalze der Alkalien und Erdalkalien.

Aus dem Dasein des Thrombins als eines innerhalb des Organismus zwar sehr verbreitet, aber doch immer nur in Spuren vorkommenden und erst ausserhalb desselben in den betreffenden thierischen Körperflüssigkeiten in Massen auftretenden fibrinbildenden Ferments folgte mit absoluter Nothwendigkeit nicht blos, dass eine unwirksame Vorstufe dieses Ferments in den an sich gerinnbaren Körperflüssigkeiten existieren müsse, sondern auch, dass derselben erst ausserhalb des Organismus die Möglichkeit geboten ist, in gewissermaassen stürmischer, ungezügelter Weise als Substrat der Thrombinbildung wirksam zu werden, ebenso aber auch, dass es noch etwas anderes geben müsse, unter dessen Einwirkung diese Bildung stattfindet. Letzteres ist, wie ich nachgewiesen habe, in den alkohollöslichen Bestandtheilen der Zellen sowohl als der Blutflüssigkeit enthalten. Die erstere, das bezügliche Zymogen, ist von mir zwar noch nicht als chemischer Stoff dargestellt, ihre Existenz aber durch ihre Wirkungen in so handgreiflicher Weise nachgewiesen worden, dass ich keinen Augenblick an der Berechtigung zweifle, sie und die Bedingungen, welche ihre Spaltung und damit die Thrombinbildung beeinflussen, in einem besonderen Kapitel zu behandeln. Wir werden später sehen,

dass die Bedeutung dieses Zymogens durch den Hinweis auf seine Mitwirkung bei der Faserstoffgerinnung keineswegs erschöpft wird; denn es lassen sich Beziehungen erkennen zwischen ihm und den Vorgängen im lebenden Blute, welche bis in das Innerste der Zellen hinüberleiten und welchen gegenüber das wirkliche Stattfinden der Faserstoffgerinnung nicht als etwas nothwendiges, sondern als etwas durchaus äusserliches, nebensächliches und durch rein zufällige Bedingungen herbeigeführtes erscheint. Hier nun haben wir es nur mit der Rolle zu thun, welche dieses Zymogen, das Prothrombin (oder, wenn man lieber will, das Thrombinogen) beim eventuellen Eintritt eines solchen Zufalls spielt.

Die bekannte Thatsache, dass hinreichend grosse Mengen der Neutralsalze der Alkalien und alk. Erden die Faserstoffgerinnung vollkommen hemmen, würde sich schon allein durch die Erfahrung erklären lassen, dass sie die Wirkung des freien Thrombins, die Bildung des kolloidalen Faserstoffs aus der fibrinogenen Substanz, unterdrücken. Die Frage also, ob sie in demselben Sinne auch auf die Entstehung des Thrombins, d. h. auf die Spaltung des Prothrombins, wirken, wird durch die Berufung auf diese Thatsache nicht entschieden; aber es können andere Thatsachen angeführt werden, welche mit Sicherheit zu einer Antwort im bejahenden Sinne führen.

Ich weise in dieser Hinsicht auf die schon auf S. 16 erwähnte Beobachtung hin, dass die zur vollständigen Unterdrückung der Faserstoffgerinnung in einer und derselben gerinnbaren Flüssigkeit erforderlichen Salzmengen sehr verschieden sind, je nachdem die letztere schon freies Thrombin enthält oder dasselbe in ihr erst vom Prothrombin abgespalten werden soll. Da man nun in dem letzteren Falle mit bedeutend kleineren Salzmengen seinen Zweck, die vollständige Unterdrückung der Gerinnung, erreicht, so ist damit eben auch bewiesen, dass sie, wenn auch zu klein dem freien Ferment gegenüber, doch gross genug waren, um die Thrombinbildung unmöglich zu machen; denn sonst hätte

es ja doch zur Gerinnung, wenn auch zu einer verzögerten, kommen müssen. Ich habe in dieser Hinsicht bisher nur auf die proplastischen Transsudate und auf die künstlichen Lösungen der gereinigten Plasmaglobuline hingewiesen, aber vom gewöhnlichen Blutplasma gilt ganz dasselbe. Wenn man mittelst eines Salzzusatzes den relativen Salzgehalt des Blutplasmas so weit erhöhen will, dass die Thrombinentwickelung auch nach Verdünnung mit Wasser unterdrückt bleibt, so sind natürlich grössere Salzmengen erforderlich. Diesem Zweck gemäss habe ich den Salzzusatz bei Herstellung meines Magnesiumsulfatplasmas normiert. Wenn es aber nur darauf ankommt, die Gerinnung des unverdünnten Plasmas unmöglich zu machen, so erreicht man schon mit vergleichsweise sehr kleinen Salzmengen seinen Zweck, welche, wie leicht zu constatieren ist, nahezu ohne Wirkung bleiben, sobald man dem Blutplasma einen Gehalt an freiem Thrombin giebt. In dem nach meinen Angaben bereiteten Magnesiumsulfatplasma ist also, mit Rücksicht auf den unverdünnten Zustand, das Salz den das Prothrombin spaltenden Kräften gegenüber im Ueberschuss vorhanden; man würde also auch mit kleineren Mengen des Magnesiumsulfats sich eine Flüssigkeit herstellen können, welche, ohne dass man zur Verdünnung mit Wasser zu greifen hätte, als Reagens zur Erkennung des Thrombins brauchbar wäre, aber man würde dabei zugleich sehr unpraktisch verfahren; denn indem gerade der Salzüberschuss es ermöglicht, das Salzplasma stark zu verdünnen, ohne dass es deshalb zur inneren Fermententwickelung kommt, und indem die Verdünnung ihrerseits die hemmende Wirkung des Magnesiumsulfats gegenüber der auf die präformierte fibrinogene Substanz sich beziehenden Thätigkeit des freien Thrombins eliminiert, hat man es durch Regulierung des Wasserzusatzes in seiner Gewalt, dem Magnesiumsulfatplasma in Hinsicht auf diese letztere Reaktion jeden beliebigen Grad von Empfindlichkeit zu ertheilen. Ausserdem ist Pferdeblut ein Material, mit welchem niemand gern wird ver-

schwenderisch umgehen wollen, besonders da die Herstellung des Magnesiumsulfatplasmas in festem, aufbewahrungsfähigem Zustande, weil sie nur mit Hülfe der Luftpumpe möglich ist, Schwierigkeiten macht. Verschwendung aber wäre es, concentriertere Lösungen dieses Materials zu einem Zweck zu benutzen, welcher besser noch durch verdünntere erreicht werden kann.

Wir werden weiterhin die neutralen Alkali- und Erdsalze gewisser Säuren kennen lernen, welche in viel energischerer Weise als diejenigen der Mineralsäuren die Blutgerinnung unterdrücken, da sie in sehr kleinen Mengen dasselbe in dieser Hinsicht leisten, was diese nur in verhältnissmässig sehr grossen zu leisten vermögen, und welche andererseits dem freien Thrombin gegenüber sich noch ohnmächtiger erweisen.

Ich will andererseits hier nur daran erinnern, dass von dem Cytoglobulin sowohl als dem Präglobulin ganz dasselbe galt; sie unterdrückten die auf Fermententwickelung beruhende normale Plasmagerinnung, konnten aber dem freien Ferment gegenüber sehr wenig ausrichten [1]). Da ferner die zymoplastischen Substanzen die natürlichen Auslöser der Faserstoffgerinnung sind, so ist es auch selbstverständlich, dass die gerinnungserregende Wirkung eines Zusatzes derselben auf irgendwelche natürliche oder künstliche Gerinnungsflüssigkeiten durch einen entsprechenden Zusatz von Neutralsalzen vollkommen aufgehoben werden kann, am intensivsten durch das $MgSO_4$.

Ich prüfte nun eine Reihe von Neutralsalzen der Alkalien und alkalischen Erden in Hinsicht auf die Frage, ob ihre gerinnungshemmende Wirksamkeit quantitative Unterschiede aufweist. Als Versuchsflüssigkeit diente mir filtriertes Plasma, zu welchem ich relativ gleiche Mengen der zu prüfenden Salze hinzufügte. Als Maassstab für ihre gerinnungshemmende Kraft galt die Gerinnungszeit; es war mithin nothwendig, den Salzzusatz soweit zu

[1]) „Zur Blutlehre“ p. 158.

beschränken, dass die Gerinnung nicht ganz unterdrückt, sondern nur verzögert wurde. Die hierzu erforderlichen Salzmengen im voraus zu bestimmen, ist aber wegen der in sehr weiten Grenzen wechselnden Gerinnungsenergie des Blutes unmöglich. Deshalb stellte ich mir zwei Reihen von Gerinnungspräparaten dar, indem ich von jeder Plasmaprobe nach stattgehabtem Salzzusatz eine gemessene Menge abnahm und mit dem dreifachen Volum Wasser verdünnte. So weit reichte meine Erfahrung schon, um mit Sicherheit annehmen zu können, dass, wenn die Salzzusätze für die Gerinnungsenergie des zu diesem Versuch benutzten filtrierten Plasmas auch vielleicht zu grosse waren, in den verdünnten Präparaten der Erfolg doch nicht ausbleiben konnte.

Die neutralen Salzlösungen, die ich zu diesen Versuchen benutzte, hatten einen Gehalt von 10 %. Die Mischung geschah im Verhältniss von 1 Vol. filtrierten Plasma zu $^1/_2$ Vol. der Salslösung. Das zugesetzte Salz betrug also, auf das Volum der Mischung bezogen, 3,3 %, in den mit dem dreifachen Volum Wasser verdünnten Proben, aber nur 0,83 %. Ich hatte es in diesem Falle in der That mit einem Plasma von sehr geringer zymoplastischer Kraft zu thun, denn die ohne Wasserzusatz gebliebenen Präparate der ersten Reihe blieben alle innerhalb der von mir zunächst festgesetzten Beobachtungsfrist von 4 Tagen flüssig und wurden deshalb nach Ablauf derselben verworfen, während ich bei vielen früheren mit Salzen angestellten Versuchen die Erfahrung gemacht hatte, dass Quantitäten derselben von der doppelten Grösse der hier angewandten die Faserstoffausscheidung nur um ein paar Tage verzögerten. Aus der nachfolgenden Zusammenstellung ersieht man, welche Salze ich zu diesen Versuchen benutzt habe, sowie die entsprechenden Gerinnungszeiten. Die Präparate wurden um 1 Uhr mittags aufgestellt und die Beobachtung wurde an demselben Tage bis 8 Uhr Abends fortgesetzt. Am anderen Morgen fand ich mehrere Präparate, welche während der Beobachtung am ersten Tage flüssig geblieben waren, geronnen,

die Gerinnungszeiten derselben, welche gewiss unter einander sehr verschieden waren, kann ich also nicht genauer angeben, als mit der Bezeichnung „nachts". Indess stört diese Ungenauigkeit den Ueberblick, auf welchen es mir ankommt nicht wesentlich. Die Versuchsresultate ersieht man aus den folgenden Angaben, welche sich, wie gesagt, nur auf die verdünnten Präparate bezieht.

KCl	Gerinnung	nachts.
$NaCl$	„	nach 1 Stunde 5 Min.
Na_2SO_4	„	„ 4 „ 30 „
$NaNO_3$	„	„ 1 „ 20 „
$CaCl_2$	Gerinnung	nachts.
$SrCl_2$	„	nach 4 Tagen.
$SrNO_3$	„	nachts.
$BaCl_2$	„	nach 6 Stunden 30 Min.
$MgCl_2$	„	nach 23 Stunden.
$MgSO_4$	„	während ausnahmsweise 8 Tage lang fortgesetzter Beobachtung nicht geronnen.
$MgNO_3$	„	nach 4 Tagen geronnen.

Dass ich gerade mit den vorstehend aufgezählten Salzen diese Versuche angestellt habe, geschah aus keinem anderen Grunde, als weil sie in meinem Laboratorium zufällig vorräthig waren. Die angegebenen Gerinnungszeiten haben natürlich nur eine ungefähre Bedeutung, da der Vorgang der Faserstoffausscheidung selbst um so allmählicher vor sich geht, je länger die Gerinnungszeiten sind; ich habe deshalb annähernd den Zeitpunkt zu bestimmen gesucht, in welchen die Flüssigkeit gleichmässig gallertig erschien; diese Bestimmung ist gewiss ungenau, ihre Fehler kommen aber nicht in Betracht gegenüber den grossen Zeitunterschieden, welche die obige Zusammenstellung aufweist. Es ergiebt sich aus ihr im Allgemeinen, dass die Erdsalze viel intensiver gerinnungshemmend wirken, als die Alkalisalze, und unter den ersteren die schwefelsaure Magnesia am intensivsten, ferner dass unter den Alkalisalzen

diejenigen des Kaliums (sofern man nach einem Beispiel derselben schliessen darf) die des Natriums in dieser Hinsicht überragen. Am schwächsten unter allen wirkte das NaCl; hier betrug der Zeitunterschied, verglichen mit dem als Controlle dienenden, blos mit 3 Vol. Wasser verdünnten Plasma nur wenige Minuten.

Von diesen Präparaten abgenommen und mit etwas Thrombinlösung versetzte Proben gerannen alle in wenigen Minuten, natürlich mit kleinen Zeitdifferenzen, auf welche ich weiter nicht geachtet habe. Die Constatierung der Thatsache, dass das freie Thrombin in allen diesen Präparaten sofortige Gerinnungen hervorrief, genügt um zu beweisen, dass die lange Dauer der nach den Salzzusätzen beobachteten Gerinnungszeiten auf Hemmungen der Throbinentwickelung beruhen, Hemmungen, deren Intensität von der Natur der angewandten Salze abhing.

Je nach der Beschaffenheit der betreffenden Gerinnungsflüssigkeit hindern also relativ grosse Mengen von Neutralzalzen der Alkalien und Erdalkalien die Gerinnung in zweierlei Weise. Enthält die Flüssigkeit bereits freies Thrombin, so unterdrücken sie die Wirkung desselben, die Bildung des kolloidalen Faserstoffs, dessen Mutterstoffe sich dabei nachweislich ihren globulinartigen Charakter bewahren; handelt es sich aber um Gerinnungsflüssigkeiten (natürliche oder künstliche), in welchen das Thrombin vom Prothrombin erst abgespalten werden soll, so unterdrücken sie eben diesen Spaltungsvorgang und damit alles weitere.

Nun aber hat sich weiter gezeigt, dass ein gewisser, vergleichsweise sehr geringer Salzgehalt der Gerinnungsflüssigkeiten eine nothwendige Bedingung für das Zustandekommen ihrer Gerinnung darstellt und es fragt sich wie diese Erscheinnung zu erklären sei.

Auch hier haben wir die obigen beiden Fälle zu unterscheiden. Enthält die von Salzen befreite Gerinnungsflüssigkeit freies Thrombin, so beruht ihre Gerinnungsfähigkeit nicht etwa (wie bei grossen

Salzzusätzen) auf einer in Folge des Salzmangels eintretenden Unfähigkeit des Ferments zu wirken, also auf einer Unterdrückung der Bildung des kolloidalen Faserstoffs, sondern sie beruht eben auf dem Wegfall der früher besprochenen coagulierenden Wirkung des Salzes selbst; der kolloidale Faserstoff bildet sich trotz des Salzmangels ungehindert unter der Einwirkung des Thrombins und hat er sich ganz ausgebildet, so wird er durch einen Salzzusatz, mag er grösser oder kleiner sein, auch sofort als Faserstoff ausgefällt; an und für sich aber verbleibt er in gelöstem Zustande.

Aber auch im zweiten Falle, wenn nämlich die betreffende Gerinnungsflüssigkeit neben den Globulinen, als den Vorstufen des Fibrins, kein freies Thrombin enthält, sondern nur das Substrat der Thrombinbildung, zymoplastische Substanzen und Prothrombin, bleibt die Faserstoffgerinnung bei Salzmangel aus. Es ist nicht schwer sich solche das Fermentbildungssubstrat enthaltende, aber ihres natürlichen Salzgehaltes beraubte, und infolge dess permanent flüssig bleibende Gerinnungsflüssigkeiten zu verschaffen; hierher gehören z. B. die gesättigten alkalischen Lösungen der durch mehrfaches Fällen und Wiederauflösen gereinigten Plasmaglobuline, die stets etwas vom Fermentbildungssubstrat einschliessen; ebensolche Flüssigkeiten verschafft man sich, indem man ein proplastisches Transsudat durch Dyalyse seines Salzgehaltes möglichst beraubt, die hierbei ausgeschiedene fibrinogene Substanz mit der zureichenden Menge verdünnter Natronlösung wiederauflöst und nun noch etwas Prothrombinlösung, die ja stets auch einen Gehalt an zymoplastischen Substanzen besitzt, hinzufügt. Wir werden später sehen, wie sich eine solche kein freies Thrombin, wohl aber das Substrat seiner Bildung enthaltende salzfreie Gerinnungsflüssigkeit mit Hülfe von Magnesiumsulfat und noch besser von oxalsauren Salzen sogar aus dem Blutplasma herstellen lässt.

Der negative Erfolg, das Ausbleiben der Gerinnung in solchen thrombin- und salzfreien Flüssigkeiten, beweist nun aber keines-

wegs, dass ihr natürlicher Salzgehalt für den Vorgang der Prothrombinspaltung eine nothwendige Bedingung darstellt; denn diese Spaltung könnte trotzdem stattgefunden und das freigewordene Ferment auch gewirkt haben und nur die schliessliche Gerinnung des kolloidalen Faserstoffs wegen des Salzmangels ausgeblieben sein. Wohl aber wird die Abhängigkeit der Prothombinspaltung von dem natürlichen Salzgehalt durch das positive Versuchsresultat bewiesen, durch die Thatsache, dass die Gerinnung der erwähnten Flüssigkeiten nach einem passenden Salzzusatz sich regelmässig, bald früher bald später, einstellt. Es muss also unter der Einwirkung des Salzes zunächst und vor Allem das Ferment entstanden sein; denn die betreffenden Flüssigkeiten waren ja ursprünglich fermentfrei; weiterhin wird das zugesetzte Salz denn auch seine coagulierenden Kräfte entfaltet haben.

Viel leichter und bequemer, als an den bisher erwähnten Flüssigkeiten, lassen sich die Bedingungen, unter welchen eine Thrombinentwickelung stattfindet, am gewöhnlichen Blutserum studieren. Dasselbe ist, wie ich in meiner Arbeit „Zur Blutlehre“ gezeigt habe, sehr reich an Prothrombin und enthält zugleich zymoplastische Substanzen, nur dass selbstverständlich die unter Umständen eintretende Reaktion dieser Bestandtheile auf einander zur Fermententwickelung führt, ohne dass eine Gerinnung sich an diesen Vorgang anschliesst. Ob nun der Salzgehalt des Blutserums diese Reaktion in wesentlicher Weise bedingt oder nicht, ist sehr leicht zu erkennen; denn man hat das Serum nur von diesem Salzgehalt und zugleich von seinem Gehalt von freiem Thrombin zu befreien, was beides durch Dialysieren erreicht wird, und dann mit Hülfe der gewöhnlichen Reagentien zu ermitteln, ob sich das Thrombin ohne weiteres nach den bisher von mir angegebenen Methoden darin entwickeln lässt, oder ob es dazu auch eines Salzzusatzes bedarf.

Nun habe ich ferner gezeigt, dass in dem aus der natürlichen Gerinnung hervorgehenden Blutserum sich stets ein Gleichgewicht

hergestellt hat zwischen den das Prothrombin spaltenden und den diese Spaltung hemmenden Kräften, welches, um die Spaltungen wieder beginnen zu lassen, entweder durch Zusatz von zymoplastischen Substanzen oder, noch bequemer, durch eine vorübergehende Erhöhung der Alkalescenz des Serums gestört werden muss.[1]) Die Dialyse bringt nun aber den grossen Vortheil mit sich, dass sie auch die Entfernung der spaltungshemmenden Stoffe bewirkt. Deshalb erzielt man mit dialysiertem Blutserum so viel bessere Resultate als mit gewöhnlichem. Da sich nun weiter herausstellte, dass die Tiefe und Ausgiebigkeit der durch den Alkalizusatz eingeleiteten Spaltung in geradem Verhältnisse mit seiner Grösse sowohl als mit der Zeitdauer seiner Einwirkung wächst, andererseits aber auch, dass für beides eine Grenze existiert, bei deren Ueberschreitung das Prothrombin sowohl als das etwa in Freiheit gesetzte Thrombin vollkommen zerstört werden, so setzte ich die Dauer der Alkalescenzerhöhung beim dialysierten Blutserum ein für alle Mal auf eine halbe Stunde fest und suchte nun erfahrungsgemäss diejenige Grösse des Alkalisatzes zu ermitteln, welche mir in dieser Zeit das günstigste Resultat ergab.

Beim dialysierten Pferdeblutserum, mit welchem ich damals vorzugsweise arbeitete, erwies sich als das zu den besten Ergebnissen führende Verhältniss dasjenige von 0,15—0,20 Ccm. Normalnatronlösung auf 10 Ccm. Serum. Indem ich dieses Verhältniss auch auf das dialysierte Rinder- Hunde- und Katzenblutserum anwandte, habe ich gleichfalls zwar Prothrombinspaltungen in ihnen bewirkt, aber zur Entwickelung von so gewaltigen Thrombinmengen wie im Pferdeblutserum gelangte ich dabei nicht. Indess hat sich meine schon damals ausgesprochene Vermuthung, dass jede Serumart ihrer besonderen Natur gemäss auch eine besondere Grösse des Alkalizusatzes erfordert, beim Rinderserum bestätigt.[2]) Hier

[1]) „Zur Blutlehre", p. 205—211.

[2]) „Zur Blutlehre", p. 210.

ermittelte ich, nach stattgehabter Dialyse, als das wirksamste Verhältniss für eine halbstündige Dauer der Alkalescenzerhöhung dasjenige von 0,5—1,0 Ccm. Normalnatronlösung auf 10 Ccm. Serum. Mit anderen Serumarten habe ich mich nicht weiter befasst, da das Rinderblutserum doch wohl überall das am leichtesten zu beschaffende Versuchsobject darstellt und bei Beobachtung des angegebenen Verhältnisses Fermentlösungen von der allergrössten Wirksamkeit liefert.

Durch Versuche mit Rinderserum stellte ich ferner fest, dass man der Weitläufigkeit der Dialyse sich auch entschlagen kann, wobei man freilich nicht Fermentlösungen von so eminenter Wirksamkeit erhält, wie nach stattgehabter Dialyse, aber doch solche, mit welchen man, namentlich mit Rücksicht auf die Vereinfachung und Abkürzung der Darstellungsmethode, durchaus zufrieden sein kann. Es bedarf hierzu nur eines bedeutend grösseren Alkalizusatzes, beim Rinderserum im Verhältniss von 1,5—2,0 Ccm. auf 10 Ccm. Serum. Beim nicht dialysierten Pferdeserum genügt das Verhältniss von 0,4—0,75 auf 10 Serum.

Aus den hier dargelegten Unterschieden zwischen gewöhnlichem und dialysiertem Blutserum geht hervor, dass die Grösse des zur Prothrombinspaltung erforderlichen Alkalizusatzes sich richtet nach der Menge der vorhandenen spaltungshemmenden Serumbestandtheile, ferner sehen wir, dass das Serum des Rinderbluts viel reichlicher mit ihnen versehen ist, als das des Pferdebluts. Wenn nun das Pferdeblut trotzdem viel langsamer gerinnt, als das Rinderblut, so wird man den Grund dieses Unterschiedes nicht in den spaltungshemmenden Blutbestandtheilen, sondern etwa in einem geringen Gehalt an zymoplastischen Substanzen oder in einer besonderen Complication anderer die Gerinnung beeinflussender, aber uns noch unbekannter Umstände zu suchen haben.

Durch die angeführten Versuche mit Blutserum scheint nun aber die Frage, ob ein gewisser Salzgehalt für die Spaltung des Prothrombins nothwendig ist, bereits im verneinenden Sinne ent-

schieden zu sein; denn das 2 Tage lang dialysierte Serum ist seiner Alkalisalze bis auf Spuren, der Kalk- und Magnesiasalze aber zum grossen Theil beraubt und stellt doch das beste Material zur Herstellung von Thrombinlösungen dar, ein günstigeres, als das normale Blutserum mit dem gewöhnlichen Salzgehalt. Aber es ist merkwürdig, dass eben im gewöhnlichen, nicht dialysierten Blutserum die Spaltung des Prothrombins durchaus von seinem Salzgehalt abhängig erscheint. Es drängt sich deshalb die Vermuthung auf, dass durch die Dialyse, abgesehen von den Salzen, noch andere Serumbestandtheile entfernt werden, deren Anwesenheit im gewöhnlichen Blutserum den Salzgehalt desselben zu einem nothwendigen Faktor bei der Prothrombinspaltung macht. Der in dieser Hinsicht entscheidende Versuch würde die mechanische Entfernung der Salze allein ohne gleichzeitigen Verlust an anderen Serumbestandtheilen zur Voraussetzung haben. Dies ist unmöglich, aber man kann jeden Verlust vermindern, indem man den relativen Salzgehalt, auf welchen es auch hier ankommt, durch Verdünnen des Serums mit Wasser hinunterdrückt und man erreicht dabei eine Grenze, bei welcher sich die Abhängigkeit der Prothrombinspaltung von den Salzen auf das Deutlichste nachweisen lässt. Ich führe als Beispiel hier folgenden Versuch an:

Aus dem Schlachthause stammendes Rinderblut wurde 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dann ein Theil des klaren Serums abgehebert und in einem Cylinderglase noch einmal für zwei Tage derselben Temperatur ausgesetzt; dies geschah um dem im Serum bereits enthaltenen Thrombin Zeit zum Zerfall zu geben, was erst soweit gelang, dass in einer Gerinnungsmischung von 1 Ccm. Salzplasma mit 8 Ccm. dieses Serums erst nach mehr als 1 $^1/_2$ Stunden die ersten Zeichen der Faserstoffausscheidung sichtbar wurden. Von drei Proben dieses Serums zu je 1 Ccm. wurden zwei mit je 25 Ccm. Wasser (Probe I und II), die dritte mit 25 Ccm. einer Kochsalzlösung von 0,6 % verdünnt, hierauf zu Probe II und III je 0,75 Ccm. $^1/_5$ Normalnatronlösung hinzugefügt, nach einer

halben Stunde mit $^1/_5$ Normalessigsäure neutralisiert und hierauf erst auch der Probe I und II ein auf das zugesetzte Wasser berechneter Salzgehalt von 0,6 % gegeben: um jede Differenz auszugleichen, erhielt nun Probe I auch noch einen Zusatz von 1,5 Ccm. der durch Zusammenmischen von gleichen Theilen der $^1/_5$ Normalnatron- und $^1/_5$ Normalessigsäurelösung entstandenen neutralen Lösung von essigsaurem Natron. Jetzt wurden je 8 Ccm. der verdünnten Serumproben mit je 1 Ccm. Magnesiumsulfatplasma gemischt und die Gerinnungszeiten gemessen. Alle drei Proben hatten also unmittelbar vor Herstellung der Gerinnungsmischungen ganz den gleichen Wasser- und Salzgehalt. Probe I unterschied sich von den beiden folgenden dadurch, dass in ihr keine vorübergehende Alkalescenzerhöhung stattgefunden hatte, der Unterschied zwischen den letzteren unter einander aber bestand darin, dass in Probe II das Kochsalz erst nach dem Neutralisieren hinzugefügt wurde, während in Probe III das Natron gleichzeitig mit dem Kochsalz auf das Prothrombin einwirkte. Aus der nachfolgenden Zusammenstellung ersieht man die Resultate.

	Gerinnungszeiten.
Probe I, das Serum mit 25 Th. Wasser verdünnt, darauf Salzzusatz von 0,6 %	$5^1/_2$ St. (beginnend)
Probe II, das Serum ebenso verdünnt, vorübergehende Alkalescenzerhöhung nach dem neutralisierenden Salzzusatz von 0,6 % . .	Gerinnung tritt gar nicht ein.
Probe III, das Serum ebenso verdünnt, vorübergehende Alkalescenzerhöhung bei Gegenwart von 0,6 % Salz	$1^1/_4$ Min. (beendet).

In Probe I wirkte noch der Rest des im Blutserum vorhandenen freien Thrombins, in Probe II war das Prothrombin mitsammt dem Thrombinrest vom zugesetzten Natron offenbar ganz zerstört

worden, was, da ich einem solchen Effekt eines Natronzusatzes von der angegebenen Grösse beim Rinderserum nie begegnet bin, wohl mit der starken Verdünnung zusammenhängt; Probe III endlich stellt eine hochgradig wirksame Thrombinlösung dar. Bei Vergleichung der Wirkung von Probe II und III drängt sich die Vermuthung auf, dass das Salz das Prothrombin sowohl als das durch dessen Spaltung erzeugte Thrombin vor der Zerstörung geschützt und dadurch die Aufspeicherung des letzteren im verdünnten Blutserum ermöglicht haben dürfte.

Der Versuch wurde mit demselben Blutserum wiederholt, mit dem Unterschied jedoch, dass die Verdünnung nicht mit dem 25, sondern mit dem 35fachen Volum Wasser stattfand und dass zu Probe II und III nicht 0,75, sondern 0,50 Ccm. $^1/_5$ Normalnatronlösung hinzugefügt wurde. Ferner wurde die Probe II doppelt genommen (Probe IIa und IIb), die eine Probe (IIb) sofort nach stattgehabtem Alkalizusatz mit einigen Tropfen einer dünnen Emulsion von zymoplastischen Substanzen versehen und dann ein Mal durchgeschüttelt. Im übrigen wich die Anordnung des Versuchs in nichts von der des vorigen ab. Die näheren Angaben über die einzelnen Proben darf ich in der Zusammenstellung der Ergebnisse jetzt wohl weglassen.

	Gerinnungszeiten.		
Probe I . . .	24	Stunden	(beginnend)
„ IIa . . .	3	„	„
„ IIb . . .	$^3/_4$	„	„
„ III . . .	$^1/_4$	„	(beendet).

Die Resultate stimmen mit denjenigen des ersten Versuches vollkommen überein, nur sind die absoluten Gerinnungszeiten hier durchweg länger, ob des höheren Verdünnungsgrades oder des geringeren Natronzusatzes wegen, mag dahingestellt bleiben; sicherlich aber hängt es mit dem letzteren Umstande zusammen, dass in Probe IIa nicht wie in der entsprechenden Probe II des ersten Versuches

das Prothrombin ganz zerstört worden ist, sondern im Gegentheil eine geringe Thrombinvermehrung stattgefunden hat, noch mehr, in Folge der Mitwirkung der zymoplastischen Substanzen in Probe IIb. Probe III zeigt wieder, welche eminente Bedeutung der Salzzusatz für die Spaltung des Prothrombin hat.

Eine Reihe von solchen Versuchen, in welchen ich statt des Salzplasmas mich eines proplastischen Transsudats als Reagens bediente, ergab ganz dieselben Resultate; die Gerinnungszeiten waren hier durchweg etwas länger, ein Unterschied, der unmerklich wurde, als ich das Transsudat vor der Versuchsanstellung neutralisierte. Das Mischungsverhältniss war 1 Vol. des Transsudats mit $^1/_2$ Vol. der betreffenden verdünnten Serumproben. Bei der Zuverlässigkeit dieser Versuche und ihrer Ergebnisse glaube ich mich der genaueren Angaben über dieselben entheben zu dürfen. Die absoluten Gerinnungszeiten fallen natürlich je nach den gewählten Mischungsverhältnissen verschieden aus, die relativen bleiben unter allen Umständen dieselben.

Als ich vor nahezu zwei Jahrzehnten in den eingangs des ersten Abschnitts dieses Kapitels citierten Arbeiten die Behauptung aufstellte, dass ein gewisser Salzgehalt, der ungefähr demjenigen der gerinnbaren Körperflüssigkeiten gleichkommt, eine für das Zustandekommen der Faserstoffgerinnung wesentliche Bedingung darstellt, stützte ich mich, abgesehen von Versuchen mit alkalischen, von den Salzen möglichst befreiten Globulinlösungen resp. mit dialysierten Transsudaten, auch auf solche mit stark verdünntem Pferdeblutplasma. Ich vermochte aber damals die Faserstoffgerinnung noch nicht so wie jetzt zu analysieren und definierte daher die Wirkung der Salze nur dahin, dass sie das durch das Thrombin gebildete Zwischenprodukt der Faserstoffgerinnung, das ich mit der kolloidalen Kieselsäure verglich, in die unlösliche Modification überführten. Die Frage, ob sie auch den Vorgang der Fermentbildung günstig beeinflussten, fasste ich zwar schon

damals in's Auge, konnte sie jedoch nicht zur Entscheidung bringen. Mit Bezug auf diese Frage habe ich die Versuche mit verdünntem Pferdeblutplasma wiederaufgenommen, doch will ich, bevor ich auf dieselbe näher eingehe, auf ein Verhältniss aufmerksam machen, das ich zwar schon seit langer Zeit bemerkt, dessen ich aber bis jetzt keine Erwähnung gethan.

Ich habe nämlich in meiner letzten ausführlichen Arbeit[1]) den Beweis geliefert, dass schon im cirkulierenden Blute fortwährend Prothrombin gespalten und das dabei freiwerdende Thrombin ebenso fortwährend zerstört wird, dass aber diese Spaltung mit dem Augenblick, in welchem das Blut den Organismus verlässt, durch eine jetzt erst freiwerdende Einwirkung seitens der farblosen Blutkörperchen stürmisch wird. Eine Temperatur von 0° macht aber die letzteren in dieser Hinsicht unwirksam und um das Blutplasma annähernd in dem Zustande mir zu verschaffen, in welchem es im Körper cirkuliert, trenne ich es, nachdem ich das Blut so rasch als möglich auf diese Temperatur gebracht, von den Leucocyten durch Filtrieren. Aber dieses Ziel ist eben nicht vollkommen zu erreichen; denn das Filtrieren geht langsam von statten und da das Blutplasma das Fermentbildungsmaterial bereits in sich enthält, so findet auch eine langsame Fermentbildung trotz der niederen Temperatur während des Filtrierens in ihm statt. Trotzdem besteht natürlich ein gewaltiger Unterschied zwischen dem leucocytenhaltigen und dem filtrierten Plasma in Bezug auf die Energie ihrer Gerinnungstendenz. Wenn man aber die Möglichkeit hat durch gerinnungshemmende Mittel sowohl die im kalten Plasma aus inneren Gründen, also unabhängig von den Leucocyten ablaufende Fermententwickelung zu unterdrücken, als auch in dieser Hinsicht zugleich die Leucocyten selbst mit einem Schlage lahm zu legen, so wird man sie natürlich nicht beim filtrierten, sondern bei dem so rasch als möglich nach dem Aderlass ohne weiteres

[1]) „Zur Blutlehre".

vom gekühlten Blute abgehobenen Plasma anwenden. Ein solches Mittel ist die concentrierte Magnesiumsulfatlösung. Verdünnt man das mit diesem Salze und mit filtriertem Plasma im gewöhnlichen Mischungsverhältniss hergestellte Salzplasma mit 8—10 Theilen Wasser, so machen sich die während des Filtrierens freigewordenen geringen Thrombinmengen geltend und die Flüssigkeit gerinnt nach dem Verdünnen von selbst, wenngleich sehr langsam im Laufe von 1—2 Tagen und selten erschöpfend; unterlässt man aber das Filtrieren, so gehört das Auftreten von Gerinnungserscheinungen im verdünnten Salzplasma, und zwar auch von nur andeutungsweisen, zu den sehr seltenen Ausnahmen. Wie das Magnesiasalz verhalten sich auch die anderen Neutralsalze der Alkalien und Erden, natürlich nach Maassgabe ihrer überhaupt geringeren gerinnungshemmenden Wirksamkeit. Wir werden später andere gerinnungshemmende Mittel kennen lernen, bei welchen dieses Verhältniss in noch eklatanterer Weise hervortritt als bei den bis jetzt erwähnten Salzen und welche deshalb beim filtrierten Plasma gar nicht anzuwenden sind; hier will ich nur betonen, dass es auch für das einfach mit Wasser verdünnte Pferdeblutplasma Geltung hat. Die bezüglichen Versuche, auf welche ich jetzt im Interesse der soeben aufgeworfenen Frage übergehe, werden also besser mit nicht filtriertem als mit filtriertem Plasma angestellt.

Man verdünne mehrere Proben gekühlten Pferdeblutplasmas mit steigenden Wassermengen, so wird man bemerken, dass die Gerinnung sich um so mehr verschleppt, je grösser der Wasserzusatz war. Oft schon bei Verdünnung mit 20, sicher aber mit 25—30 Volumth. Wasser bleibt sie überhaupt ganz aus; ihr Verlauf wird aber im ersten Falle abgekürzt, bzhsw. sie stellt sich im zweiten Falle wieder ein, wenn man der verdünnten Flüssigkeit einen Gehalt von 0,6—0,8% Kochsalz giebt, womit man nach mehreren früher von mir ausgeführten Bestimmungen dem Gesammtsalzgehalt des unverdünnten Pferdeblutplasmas am nächsten

kommt. Auch nach Verdünnung mit 50, 100 und noch mehr Volumtheilen Wasser habe ich die Gerinnung durch die entsprechenden Salzzusätze wieder eingeleitet; ob es einen Verdünnungsgrad giebt, bei welchem diese Möglichkeit aufhört, weiss ich nicht; es ist möglicherweise derjenige Grad, bei welchem die Wahrnehmbarkeit des Faserstoffes aufhört. Hiervon war bei meinen Versuchen noch nicht die Rede und unter allen Umständen schied sich aus dem verdünnten Plasma nach stattgehabtem Salzzusatz ebensoviel Faserstoff aus, wie aus dem unverdünnten.

Wenn wir wissen, warum bei den höheren Graden der Verdünnung die Gerinnung des Plasmas ganz ausbleibt, so wissen wir auch, warum sie bei den niederen Graden eine verlangsamte ist und die Frage lautet deshalb: ist die im ersteren Falle eintretende völlige Gerinnungsfähigkeit des verdünnten Plasmas dadurch bedingt, dass wegen des auf ein Minimum herabgesetzten relativen Salzgehalts die Coagulierung des ungehindert gebildeten kolloidalen Faserstoffs in der verdünnten Flüssigkeit nicht stattfinden konnte, was die Fermententwickelung und Fermentwirkung in derselben voraussetzt, oder dadurch, dass die Fermententwickelung selbst durch die starke Verdünnung unmöglich gemacht wurde?

Wenn das erstere der Fall wäre, so würde das verdünnte Plasma zugleich eine Thrombinlösung darstellen und wenn es wegen seines Salzmangels auch nicht selbst gerinnen könnte, so müsste es doch auf die salzhaltigen Reaktionsflüssigkeiten, wie z. B. proplastische Transsudate oder verdünntes Salzplasma, grade wie eine wässerige Thrombinlösung wirken; das ist aber durchaus nicht der Fall, zu welcher Zeit nach stattgehabter Verdünnung des Plasmas man den Versuch auch anstellen mag; es fehlt also an Thrombin und hierauf beruht die Gerinnungsunfähigkeit des verdünnten Plasmas.

In Folge der durch die Verdünnung des Plasmas bewirkten Herabsetzung seines relativen Salzgehalts wird also der Vorgang der Prothrombinspaltung in ihm erschwert und von einem gewissen

Grade der Verdünnung an ganz unterdrückt, und da er durch einen passenden Salzzusatz wieder in Gang gebracht wird, so folgt weiter, dass der normale Salzgehalt der gerinnbaren Körperflüssigkeiten für ihre Gerinnung zunächst dadurch von Bedeutung ist, dass die Fermententwickelung von ihm abhängig ist, und erst wenn diese stattgefunden und das Ferment gewirkt hat, also in zweiter Instanz, dadurch, dass er die Coagulierung des Fermentationsprodukts, des kolloidalen Faserstoffs, herbeiführt.

Aber es ist bei der durch einen passenden Salzzusatz herbeigeführten Gerinnung des verdünnten Blutplasmas doch noch etwas besonderes zu bemerken: wenn sie nämlich auch in Bezug auf die Masse des gebildeten Faserstoffs als eine vollkommene bezeichnet werden kann, so gilt dies doch nicht von ihrer Geschwindigkeit. In den Fällen geringerer Verdünnung, in welchen die Gerinnung nicht ganz unterdrückt, sondern mehr oder weniger in die Länge gezogen wird, wirkt der Salzzusatz zwar beschleunigend, aber der Process verläuft doch immer bedeutend langsamer als die natürliche Gerinnung im unverdünnten Plasma. Noch mehr gilt dies von denjenigen Fällen stärkerer Verdünnung, in welchen die Flüssigkeit ihre Gerinnungsfähigkeit ganz eingebüsst hat. In allen Fällen, in welchen ich das Plasma mit 35 Vol. Wasser verdünnt und darauf mit 0,5—0,8% NaCl versehen hatte, erfolgte die Gerinnung erst nach 6—9 Stunden; schneller, nämlich nach $1^1/_2$—3 Stunden trat sie ein, wenn ich statt 0,8% NaCl in die Flüssigkeit 0,2% $CaCl_2$ brachte.[1]) Am deutlichsten trat mir dieses Verhältniss entgegen, wenn ich das verdünnte Plasma vor der Versuchsanstellung filtrierte. Die gerinnungserregenden Eigenschaften nämlich der

[1]) Auch bei den vorhergehend angeführten, die Thrombinentwickelung im verdünnten Blutserum betreffenden Versuchen zeigte sich, dass 0,2% $CaCl_2$ in dieser Hinsicht bedeutend intensiver wirkten als 0,8% NaCl.

durch die Verdünnung lahm gelegten farblosen Blutkörperchen, deren Entfernung durch Filtrieren des Plasmas vor dem Verdünnen sich als unvortheilhaft erwies, werden in der verdünnten Flüssigkeit durch den Salzzusatz bis zu einem gewissen Grade wieder ausgelöst, so dass die durch den letzteren eingeleitete Gerinnung, so langsam sie verläuft, doch immer noch als eine durch die Leucocyten beschleunigte anzusehen ist. Entfernte ich sie deshalb aus dem mit 35 Vol. Wasser verdünnten Plasma durch Filtrieren mittelst eines doppelten Filtrums, was sehr schnell von statten geht und ein ganz klares Filtrat giebt, und gab dem letzteren jetzt erst einen Gehalt von 0,8% Kochsalz, so erhielt ich Flüssigkeiten, welche erst nach 20—24 Stunden gerannen.

Woher nun dieser verlangsamte Gerinnungsverlauf trotz der Erhöhung des procentischen Salzgehalts der Flüssigkeit bis auf die Norm? Es kann sich hierbei nicht darum handeln, dass die starke Verdünnung die Wirksamkeit des Thrombins gegenüber den Globulinen erschwert; denn man braucht nur eine mässige Quantität Thrombinlösung zu dem verdünnten und mit dem Salzzusatz versehenen Plasma hinzuzufügen, so erfolgt die Gerinnung mit ganz normaler Geschwindigkeit, obgleich der Verdünnungsgrad durch diesen Zusatz doch noch weiter erhöht wird. Der wahre Grund dieser Erscheinung liegt in der hochgradigen Verdünnung des gesammten Fermentbildungsmaterials und zu diesem gehören, abgesehen von den Salzen, das Prothrombin und die zymoplastischen Substanzen; ihre Reaktionen unter einander, deren Effekt das freie Thrombin ist, werden durch die Verdünnung erschwert, das Thrombin tritt nur sehr langsam auf. Deshalb wird die Gerinnungszeit des verdünnten Plasmas schon dadurch beträchtlich abgekürzt, dass man ihm ausser dem Salz noch etwas zymoplastische Substanzen zusetzt. Noch besser ist es aber, wenn man auch dem relativen Mangel an Prothrombin entgegenwirkt. Dies erreicht man durch Hinzufügung von thrombinfreier Prothrombinlösung zum verdünnten Plasma.

Die zu diesen Versuchen benutzte Prothrombinlösung war durch zweitägige Dialyse eines bereits drei Tage alten Rinderserums gewonnen worden; freies Thrombin war in ihr nicht nachweisbar. Ich verdünnte nun 1 Volth. gekühlten Plasmas mit 25 Volth. Wasser und 10 Volth. dieser Prothrombinlösung, so dass die Verdünnung des Plasmas in Bezug auf das Prothrombin nun nicht mehr eine 35fache, sondern annähernd nur eine $3^1/_2$fache war. Diese Mischung gerann ohne Salzzusatz während einer Beobachtungsdauer von zwei Tagen nicht, denn es war ja auch die Prothrombinlösung durch die Dialyse ihres Salzgehaltes bis auf Spuren beraubt worden; der Erfolg blieb ebenso negativ, wenn ich zymoplastische Substanzen hinzufügte, um den Verlust an diesem Material, welchen die Prothrombinlösung in Bezug auf die in Wasser löslichen Bestandtheile desselben durch die Dialyse erlitten hatte, zu decken. Als ich aber nun einer solchen mit einem Zusatz von zymoplastischen Substanzen versehenen Mischung einen Gehalt von 0,8 % Kochsalz gab, so verkürzten sich die Gerinnungszeiten so weit, dass sie denjenigen des gewöhnlichen unverdünnten Pferdeblutplasmas annähernd gleich wurden; jeder Unterschied in dieser Hinsicht schwand aber, als die Mischung nicht, wie hier, 25 Th. Wasser und 10 Th. Prothrombinlösung, sondern umgekehrt 25 Th. Prothrombinlösung und 10 Th. Wasser enthielt. Ebensogut erreicht man seinen Zweck auch mit der Prothrombinlösung allein.

Die Salze erfüllen also bei der Faserstoffgerinnung eine doppelte Aufgabe, aber sie thun dies, wie wir an ein paar Beispielen schon Gelegenheit gehabt haben zu bemerken, mit sehr verschiedener Kraft. Dabei herrscht offenbar ein Parallelismus zwischen ihrer coagulierenden und ihrer die Prothrombinspaltung betreffenden Wirksamkeit. Das Chlorcalcium, welches unter den von mir geprüften Salzen dem kolloidalen Faserstoff gegenüber dieselbe oberste Stellung einnahm, wie das Chlormagnesium gegenüber der kolloidalen Kieselsäure, wirkt auch bei der Spaltung des Prothrombins,

wie aus den vorstehend dargelegten, am verdünnten Serum sowohl als am verdünnten Plasma gewonnenen Versuchsergebnissen hervorgeht, mit viel grösserer Kraft als das Kochsalz.

Um diesen Verhältnissen näher nachzugehen stellte ich nun mit denselben mir gerade zu Gebote stehenden Salzlösungen, mit welchen ich die bereits mitgetheilten Versuche[1]) mit dem Zweck ihre gerinnungshemmende Wirkung vergleichend zu prüfen, ausgeführt hatte, eine andere Reihe von Versuchen an, durch welche ich, gleichfalls in vergleichender Weise, ihren gerinnungsbefördernden Einfluss ermitteln wollte. Als Versuchsobjekte diente mir filtriertes Pferdeblutplasma. Die Salzlösungen waren alle von gleicher Concentration, nämlich 10procentig; von jeder derselben wurde so viel abgemessen, dass der Zusatz an trockenem Salz überall 0,15 % der Plasmaproben betrug.

Das Resultat war, dass die Alkalisalze (KCl, NaCl, Na_2SO_4 und $NaNO_3$) gar keinen mit Sicherheit zu constatierenden Einfluss auf die Gerinnung des Plasmas ausübten, wohl aber sehr deutlich die Erdsalze ($CaCl_2$, $CaSO_4$, $SrCl_2$, $SrNO_3$, $BaCl_2$, $MgCl_2$, $MgSO_4$, $MgNO_3$) und unter ihnen am meisten die Kalksalze. Die Gerinnung der als Controlle dienenden Plasmaprobe begann nach 55 Minuten, das Chlorcalcium kürzte die Gerinnungszeit auf 25, der schwefels. Kalk bis auf 16 Minuten ab; der Zeitgewinnst bei den übrigen Erdsalzen betrug nur 5—8 Minuten. Die Wirkung der Salze ist aber viel weniger nach den angegebenen Unterschieden der Gerinnungszeiten zu bemessen, als danach, dass sie überall eine vollkommen erschöpfende Gerinnung herbeiführten, da in dem ausgepressten Serum dieser Proben keine Nachgerinnungen eintraten.

Da der schwefelsaure Kalk als gesättigte, d. h. 0,25procentige Gypslösung zur Anwendung kam und zwar zu gleichen Theilen mit dem Plasma, so war er in der Mischung nur zu 0,125 % enthalten; dennoch wirkte er stärker als das $CaCl_2$ und überhaupt am stärksten unter allen Salzen.

[1]) cfr. pag. 56—59.

Aus dem Umstande, dass die beiden Alkalisalze (KCl und NaCl) keine deutliche Wirkung auf die Gerinnung des Plasmas ausübten,[1]) darf durchaus keine Regel abgeleitet werden, denn es ist zu bedenken, dass das Blutplasma ja schon von vornherein Chloralkalien enthält, in einer Qualität, welche dem Optimum derselben jedenfalls nahesteht. Kleine Zusätze dieser Chloralkalien machen unter solchen Umständen wenig aus. Die Versuchsresultate werden aber sofort andere, wenn man es mit Gerinnungsflüssigkeiten zu thun hat, welche von ihren salzigen Beimengungen befreit worden sind, z. B. mit gereinigten Globulinlösungen; glücklicherweise giebt es jetzt auch Methoden, um dem Plasma die Salze durch Dialyse zu entziehen, ohne dass es während derselben gerinnt, so dass man also ein concentriertes dauernd flüssig bleibendes Plasma erhält, welches nur eines Zusatzes von ca. 0,5—0,8 % NaCl bedarf um zu gerinnen.

Uebrigens habe ich bei zu anderen Zwecken angestellten Versuchen Gelegenheit gehabt zu beobachten, dass das NaCl, der Repräsentant der Alkalisalze, auf welchen sich vorzugsweise meine Erfahrungen beziehen, wenn es in Quantitäten von 0,15—0,2 % des Plasmas angewandt wird, sich keineswegs immer so indifferent gegen die Gerinnung verhält, wie in dem obigen Versuche; aber es beeinflusst sie je nach der Natur des einzelnen Falles in entgegengesetzter Weise, bald beschleunigend, bald verzögernd. Von massgebender Bedeutung ist hierbei, ob der natürliche Salzgehalt des Blutes im gegebenen Falle das Optimum in Bezug auf die Gerinnung darstellt. Das trifft nicht immer zu, und da der Salzgehalt des Pferdeblutplasmas, wie mir eine grosse Anzahl früher ausgeführter Bestimmungen ergeben haben, gerade eine nahezu

[1]) Dass gar keine Beeinflussung der Gerinnung durch diese beiden Salze stattgefunden habe, kann nicht behauptet werden, weil dieselbe, wenn sie wenig ausgeprägt ist, schwer zu constatieren ist, da der Moment, in welchem das Plasma als vollkommen geronnen betrachtet werden kann, nicht genau zu bestimmen ist.

constante Grösse darstellt, so kommt es hierbei auf die sonstige Beschaffenheit desselben, namentlich auf seine sehr wechselnde zymoplastische Energie an; liegt im Verhältniss zu derselben der Salzgehalt unter dem Optimum, so wird man durch einen kleinen NaCl zusatz die Gerinnung beschleunigen, im entgegengesetzten Falle wird man sie dadurch verlangsamen. Ebenso sieht man auch, dass kleine Wasserzusätze zum Plasma (etwa von 10—25 Vol. %), zuweilen scheinbar ohne Einfluss auf die Gerinnung bleiben, zuweilen aber auch, und zwar offenbar wenn ein entschiedeneres Missverhältniss im angegebenen Sinne zwischen der zymoplastischen Energie des Blutes und seinem natürlichen Salzgehalt besteht, sie beschleunigt oder sie verlangsamt, nur so, dass der Wasserzusatz dort verlangsamt, wo der Salzzusatz beschleunigt und vice versa. Auf die Art der Beziehung zwischen der zymoplastischen Energie des Plasmas und seinem Salzgehalt komme ich sogleich zurück.

Als ein wesentliches Resultat der obigen Versuchsreihe hebe ich die Thatsache hervor, dass diejenigen Salze, welche, nach den Ergebnissen der früheren Versuchsreihe, in grossen Mengen die Faserstoffgerinnung am energischesten unterdrücken, sie in kleinen Mengen am kräftigsten befördern. Dieses Verhältniss besteht im Allgemeinen zwischen den Erd- und den Alkalisalzen, soweit man aus den wenigen von mir geprüften Vertretern derselben schliessen darf. Aber innerhalb der Gruppe der Erdsalze kommen Abweichungen von diesem Verhältniss vor. So erwies sich die schwefelsaure Magnesia als der wirksamste Unterdrücker der Faserstoffgerinnung, aber als wirksamster Förderer derselben hat sie sich nicht bewährt; in dieser Hinsicht laufen ihr die Kalksalze den Rang ab.

Wie ich nun unter den Alkalisalzen vorzugsweise das NaCl ins Auge gefasst habe, so unter den Erdsalzen vorzugsweise das $CaCl_2$. Durch eine Reihe ad hoc angestellter Versuche habe ich nun wieder festgestellt, dass das Optimum des letzteren, nach Ge-

wicht gemessen, eine viel kleinere Grösse darstellt, als das des ersteren. Es ist nicht zu rathen mit dem $CaCl_2$ die Grenze von 0,2 % der Gerinnungsflüssigkeit weit zu überschreiten; man beschleunigt die Gerinnung, speciell die des filtrirten Plasmas, gelegentlich zwar auch mit einem Zusatz von 0,3 %, ebenso oft und vielleicht noch öfter verlangsamt man sie dadurch, während es andrerseits vorkommt, dass auch 0,2 % sich als zu viel erweist und 0,1 oder 0,15 sich als das Optimum darstellen. Dass das Optimum des NaCl ein viel höheres Procent darstellt als das des $CaCl_2$, kann, wie bereits angedeutet worden ist, nackterweise nur an Gerinnungsflüssigkeiten, welche ihres natürlichen Gehalts an löslichen Salzen beraubt worden sind, festgestellt werden, worauf ich später eingehen werde. Im Allgemeinen scheint es mir aber verständlich zu sein, dass diejenigen Salze, welche einerseits die Gerinnung am intensivsten hemmen, diese ihre Wirkung auch schon von einer niedrigeren Grenze ihres Gehaltes in den gerinnbaren Flüssigkeiten auszuüben beginnen als ihre schwächer wirkenden näheren oder entfernteren Verwandten, d. h. dass andererseits mit Bezug auf die gerinnungsbefördernde Wirkung ihr Optimum dem Gewicht nach eine kleinere Grösse darstellt, als das der letzteren, wobei sie trotzdem gemäss der Natur ihrer Substanz eine grössere Wirksamkeit in dieser Hinsicht entfalten, als jene.

Von diesem Standpunkt aus betrachtet erscheint es fraglich, ob die übrigen Erdsalze unter allen Umständen in Bezug auf ihre gerinnungsbefördernde Wirksamkeit so weit hinter dem Chlorcalcium zurückbleiben würden, wie im vorliegenden Versuch. Hier wollte ich, von besonderen Gesichtspunkten ausgehend, mit gleichen Quantitäten der Salze arbeiten und wählte dazu das Verhältniss von 0,15 % des Plasmas, weil ich mit demselben bei meinen Versuchen mit $CaCl_2$ gute Resultate erzielt hatte. Damit hatte ich aber annähernd das Optimum nur dieses Salzes zum massgebenden für alle anderen gemacht. Bei einem anderen Verhältniss des Salzzusatzes würde vielleicht das $CaCl_2$ mehr zurück- und andere

Salze mehr hervortreten. Aus dem Umstande z. B., dass die schwefelsaure Magnesia die Faserstoffgerinnung viel wirksamer unterdrückt als das Chlorcalcium wäre zu schliessen, dass ihr Optimum auch viel tiefer als 0,15 % liegt. Man darf indessen nicht glauben, dass alle Salze in gleicher Weise die Gerinnung befördern würden, sofern man nur von jedem einzelnen das Optimum ermittelt und angewandt hätte; die Natur des Salzes macht trotzdem einen grossen Unterschied. Von dem NaCl und $CaCl_2$ habe ich die Optima ermittelt, indem ich von den kleinsten Zusätzen bis zu denjenigen anstieg, die bereits anfingen gerinnungshemmend zu wirken, und dadurch gelang es mir eben den von ihrer Natur abhängigen grossen quantitativen Unterschied ihrer bezüglichen Wirksamkeit zu constatieren.

Was nun aber das Optimum selbst dieser Salze und wohl auch jedes anderen anbetrifft, so ist es eben auch keine durchaus constante, sondern eine variable Grösse und wenn die Grenzen dieser Variabilität auch, mit absolutem Masse gemessen, sehr enge sind, so haben hier doch kleine Ursachen, will sagen kleine Unterschiede, grosse Wirkungen. Als feststehend kann ich nur den Erfahrungssatz aufstellen, dass die günstigsten Quantitäten der Salze in Bezug auf die Gerinnungsbeförderung, ebenso wie die zur Unterdrückung der Gerinnung grade hinreichenden Minima derselben in geradem Verhältnisse mit der zymoplastischen Energie der betreffenden Gerinnungsflüssigkeit wachsen. Diese Energie ist aber abhängig von dem in der gegebenen Flüssigkeit augenblicklich herrschenden, sehr wechselnden Verhältniss zwischen den complicierten, die Spaltung des Prothrombins bewirkenden und den diese Spaltung in specifischer Weise hemmenden Kräften und variiert mit ihnen in weiten Grenzen. Deshalb liess sich auch weder für das NaCl noch für das $CaCl_2$ ein allgemeingültiges, in jedem einzelnen Falle das Maximum der durch sie erreichbaren Beschleunigung der Gerinnung herbeiführendes Optimum feststellen; deshalb kam es vor, dass während ich z. B. mit 0,2 % $CaCl_2$ die

Gerinnung des Plasmas in den meisten Fällen ausserordentlich beschleunigte, doch hin und wieder der Effekt in einer Verlangsamung bestand, während in anderen Fällen die Beschleunigung eine unbedeutende war und es eines grösseren Zusatzes bedurfte, um ihr Maximum zu erreichen; deshalb besitzt das normale, die farblosen Blutkörperchen enthaltende Plasma, wie ich bei dieser Gelegenheit hervorheben will, für alle Salze ein höheres Optimum, als das filtrierte, so dass Salzzusätze, welche die Gerinnung dort noch begünstigen, sie hier schon hemmen und deshalb wechseln auch die Gerinnungszeiten des Blutes in so weiten Grenzen, wie man das vor allem beim Pferdeblut erfährt, trotz des sehr constanten Salzgehaltes seines Plasmas. —

Da ich den schwefelsauren Kalk in Lösung angewandt hatte, wobei das Plasma, verglichen mit den übrigen Gerinnungsproben, stark verdünnt worden war, so versuchte ich es einmal mit diesem Salze in Substanz. Wasser löst 0,25 % seines Gewichtes an Gyps und wenn, wie ich zunächst annahm, das Plasma ebensoviel aufzulösen vermochte, so gewann ich auf diese Weise ein Plasmapräparat, welches doppelt so viel von diesem Salze enthielt, als dasjenige, welches mit Gypslösung durch die Mischung zu gleichen Theilen mit dem Plasma hergestellt wurde. In zwei von diesem Gesichtspunkte aus angestellten Versuchen beobachtete ich eine sehr deutliche Gerinnungsbeschleunigung, aber während dieselbe das eine Mal die durch die Gypslösung bewirkte übertraf, blieb sie das andere Mal hinter ihr zurück, ein Unterschied, welcher offenbar im eben angedeuteten Sinne von der verschiedenen Beschaffenheit des zu diesen beiden Versuchen benutzten Plasmas abhing. Der Faserstoff schloss die überschüssigen Partikelchen des Gypses ein, so dass ich, nachdem er sich contrahiert hatte, ein vollkommen klares Serum abhebern konnte. Chlorbaryum bewirkte in diesem Serum eine bedeutend stärkere Trübung als in einer gesättigten wässerigen Gypslösung; das Plasma löst also mehr Gyps auf als Wasser. Dies veranlasste mich, auch noch

mit ein paar anderen sog. unlöslichen Erdsalzen Versuche anzustellen, namentlich mit schwefelsaurem Baryt und mit dreibasisch phosphorsaurem Kalk. Beide wurden ebenso wie der Gyps frisch dargestellt und auf dem Filtrum gut ausgewaschen. Von dem Rückstand wurde alsdann eine kleine Quantität mit einem Spatel abgenommen, in das Plasma hineingestrichen und durch Schütteln darin gut vertheilt. Die überschüssigen Partikelchen senkten sich sehr schnell und in der dadurch geklärten Flüssigkeit liess sich der Eintritt der Gerinnung sehr gut beobachten. Beide Salze beschleunigten sie ganz unzweifelhaft, besonders der phosphorsaure Kalk, welcher in dieser Hinsicht dem Chlorcalcium nichts nachgab. Es hatte sich also offenbar etwas von beiden Salzen im Plasma aufgelöst. Auf den Beweis müsste ich in Bezug auf das phosphorsaure Salz verzichten, da es im Serum ja schon als normaler Bestandtheil vorkommt; dass aber Schwerspath sich in Plasma aufgelöst hatte, liess sich nach dem chemischen Prinzip der Löslichkeitsverminderung durch überschüssiges Hinzufügen eines anderen Salzes, welches einen der Bestandtheile des primär gelösten als Componente enthält, nachweisen; denn durch einen reichlichen Zusatz von Chlorbaryum erhielt ich eine Trübung, welche in dem Serum einer Probe desselben Plasmas, welche unter gewöhnlichen Bedingungen geronnen war, nicht auftrat.

Noch einige Worte über das Verhältniss, in welchem die verschiedenen Salze in Betreff ihrer Wirkung auf gerinnbare Körperflüssigkeiten oder auf deren künstliche Derivate zu einander stehen, scheinen mir hier am Ort zu sein. Man darf sie in dieser Hinsicht nicht für qualitativ gleich und nur für quantitativ verschieden ansehen, indem man sich etwa vorstellt, dass die Gewichtseinheit eines stärker wirkenden Salzes in ihrem Effekt äquivalent ist so und so viel Gewichtseinheiten eines schwächer wirkenden, man darf sie also in Gedanken nicht addieren, so wenig wie etwa die Schwefelsäure und irgend eine andere schwächere Säure in

Bezug auf ihren chemischen Effekt addiert werden können, da derselbe ganz entgegengesetzter Art sein kann, indem z. B. die Schwefelsäure dort fällt, wo die schwächere Säure lösend wirkt. Bestände ein solches Verhältniss zwischen jenen Salzen, so würden z. B. 0,2 % $CaCl_2$ in einer Gerinnungsflüssigkeit, welche wie etwa das Blutplasma schon mehr oder weniger annähernd das Optimum des Kochsalzes enthält, dasselbe leisten wie ein mehrfach grösseres Quantum NaCl, d. h. es würde die Gerinnung behindert werden und in einer Flüssigkeit, welche bereits so viel NaCl enthält, dass die gerinnungshemmende Wirkung desselben hervortritt, würde das $CaCl_2$ diese Wirkung nur noch verstärken. Dies ist aber durchaus nicht der Fall. Jedes dieser Salze ist gewissermassen ein Individuum für sich und wirkt seiner Natur gemäss. Das Optimum des stärker wirkenden $CaCl_2$ macht sich als solches geltend, auch wenn dasjenige des Kochsalzes in der Flüssigkeit schon vorhanden ist, und es ist nur noch die Frage, ob das letztere mit seinen schwächeren Kräften dem ersteren zu Hülfe kommt oder ob es zur Unthätigkeit verurtheilt ist, oder endlich ob es unter diesen Umständen gar als schwaches Gerinnungshinderniss dem $CaCl_2$ entgegenwirkt. Enthält die Flüssigkeit aber schon grössere Mengen von NaCl, welche an und für sich gerinnungshemmend wirken, so stellen sie dem $CaCl_2$ gegenüber nur Widerstände dar, welche es so lange überwindet, bis ihre Mengen für seine Kraft zu gross geworden ist.[1]) Dazwischen liegt ein Grenzgebiet, innerhalb dessen der Kochsalzgehalt zwar gross genug ist, um an und für sich die Gerinnung für die Dauer zu unterdrücken, aber nicht gross genug, um der gerinnungserregenden Wirkung des $CaCl_2$ zu widerstehen.

[1]) Man denke, um dieses auf den ersten Blick sonderbar erscheinende Verhältniss zwischen dem Chlorcalcium und dem Kochzalz zu verstehen, an die mächtige Fermententwickelung, welche durch einen passenden Zusatz des ersteren bewirkt wird und behalte dabei im Auge, dass, wie auch eine sogleich anzuführende Versuchsreihe zeigen wird, ganz erstaunliche Kochsalzmengen erforderlich sind um die Thätigkeit des freien Thrombins gänzlich aufzuheben

Aber man glaube nicht, dass man wachsenden Mengen des Kochsalzes gegenüber auch den $CaCl_2$-Zusatz unbegrenzt anwachsen lassen darf, um die Gerinnung immer wieder hervorzurufen; denn hat die Quantität des letzteren selbst das der gegebenen Combination entsprechende Optimum überschritten, so wirkt es eben auch nur noch als Gerinnungshinderniss.

Wir haben gesehen, dass das Magnesiumsulfat in seiner Eigenschaft als gerinnungshemmendes Salz das $CaCl_2$ weit überragt, in seiner Eigenschaft als gerinnungserregendes aber eben so weit hinter ihm zurückbleibt. Hierauf beruht die Möglichkeit auch im Magnesiumsulfatplasma durch einen $CaCl_2$-Zusatz die Gerinnung herbeizuführen. Aber das Magnesiumsulfatplasma stellt zugleich eine concentrirte Lösung des betreffenden Salzes dar, und wenn es schon für den Kochsalzgehalt des Plasmas eine obere Grenze giebt, bei deren Ueberschreitung das $CaCl_2$ nichts mehr ausrichten kann, so gilt das vom Magnesiumsulfatgehalt noch mehr. Deshalb muss man das Magnesiumsulfatplasma mit Wasser verdünnen, um mit dem Chlorcalcium seinen Zweck zu erreichen. Man wird dazu meist einer Verdünnung mit dem 20—30fachen Vol. Wasser bedürfen, in seltneren Fällen aber wird man auch mit der Hälfte und noch weniger auskommen, je nach dem sehr wechselnden Verhältniss der zymoplastischen Energie des Blutes zu der bei der üblichen Weise der Darstellung des Magnesiumsulfatplasmas ein für alle Male festgesetzten Menge des Salzes. Aber man wird mit den geringeren Verdünnungsgraden jedesmal zum Ziel gelangen, wenn man den im Magnesiumsulfatplasma vorhandenen, aber vom Salz unterdrückten spaltenden Kräften durch einen Zusatz von zymoplastischen Substanzen zu Hülfe kommt und jetzt das Chlorcalcium zusetzt, wobei ich mit 0,2 % immer am besten gefahren bin.

Viel schwieriger ist der Beweis zu liefern, dass das Kochsalz auch dem Magnesiumsulfatplasma gegenüber qualitativ dasselbe leistet wie das Chlorcalcium. Die Aufgabe ist nämlich bis zu einem

gewissen Grade mit einem inneren Widerspruch behaftet. Einerseits muss den schwächeren Kräften des Kochsalzes gegenüber der Widerstand seitens des Magnesiasalzes viel tiefer heruntergedrückt werden, als es beim $CaCl_2$ nöthig war, d. h. die Verdünnung muss eine viel stärkere sein, andererseits thürmt sich dadurch für das Kochsalz die bereits erwähnte Schwierigkeit auf, welche in der gleichzeitigen Verdünnung des Substrates der Thrombildung liegt. Dennoch ist es mir ein paar mal bei Verdünnung des Magnesiumsulfatplasmas mit 80 Vol. Wasser und bei Zusatz von zymoplastischen Substanzen gelungen, die Gerinnung durch einen Kochsalzzusatz von 0,8 % hervorzurufen; sie schleppte sich aber in diesen Fällen durch mehrere Tage hin. Es ist indess klar, dass, ebenso wie beim hochgradig verdünnten Plasma, die Verhältnisse sofort andere werden, wenn man den relativen Gehalt von Fermentbildungsmaterial durch einen Zusatz von Prothrombinlösung und etwas zymoplastischen Substanzen einigermaassen erhöht. Das Mischungsverhältniss in meinen Versuchen war: 1 Th. Magnesiumsulfatplasma, 40 Th. Wasser und 10 Th. Prothrombinlösung, welchen ich einige Tropfen einer dünnen Emulsion von zymoplastischen Substanzen hinzugefügt hatte. Eine solche Mischung verändert sich, wenn kein Salz hinzugegeben wird, in der Zeit gar nicht, da die Thrombinspuren, welche allenfalls in der Prothrombinlösung noch vorhanden sein konnten, durch das Magnesiasalz, trotz der Verdünnung, vollständig unwirksam gemacht werden. Mit einem Zusatz von 0,6—0,8 % NaCl aber gerinnt sie in einigen Stunden, eine Zeit, welche natürlich nur für den in diesem Versuch gegebenen Gehalt des Magnesiumsulfatplasmas an Prothrombin und zymoplastischen Substanzen Geltung hat. Um diese Versuche recht schlagend zu gestalten, muss man es natürlich mit einem Magnesiumsulfatplasma zu thun haben, welches bei Verdünnung mit 50 und noch mehr Volumth. Wasser keine Andeutungen einer spontanen Gerinnung zeigt, was bei meinen Präparaten der Fall war.

Noch in einer anderen Weise lässt sich am Magnesiumsulfatplasma zeigen, dass das NaCl ebenso wie das $CaCl_2$ in einem spontan nicht gerinnenden Plasma die Faserstoffgerinnung herbeiführen kann, indem man dasselbe nämlich dialysiert. Hierbei ist aber zu berücksichtigen, dass die Dialyse Verluste an fibrinlieferndem Material bewirkt, um so grössere, je länger sie währt, entweder indem ein Theil der Globuline durch die ausgedehnte Berührung mit der atmosphärischen Luft Veränderungen erleidet, oder, was mir wahrscheinlicher erscheint, indem sie, bevor die Trennung von ihren Lösungsmitteln vollständig geworden, Zeit gewinnen theilweise in gelöster Gestalt die Membran zu durchdringen. Die Dialyse dauerte 24—26 Stunden bei anfangs halbstündlicher dann einstündlicher Erneuerung des äusseren Wassers. Der grosse Ueberschuss an schwefelsaurer Magnesia schützte das Plasma vor dem Eintritt der Gerinnung während der Dialyse, bis die dem Plasma selbst angehörigen Salze fort waren, was in hinreichender Weise schon im Laufe von 6—10 Stunden geschieht und womit die Gerinnungsgefahr um so mehr beseitigt war, als von dem ziemlich langsam diffundierenden Magnesiasalz nach 24stündiger Dialyse stets ein Rest übrig blieb, der noch gross genug war, um die Prothrombinspaltung selbst bei Zusatz von zymoplastischen Substanzen zu hemmen. Aber er war doch nicht mehr gross genug, um dies auch einem Kochsalzzusatz von 0,8 % gegenüber zu leisten, und das Plasma gerann, freilich in sehr verschleppter Weise, mit Flockenbildung nach mehreren Stunden beginnend, aber doch nach drei Tagen ein zusammenhängendes Coagulum bildend, eine Verlaufsart, welche niemanden, der die Verhältnisse überlegt, Wunder nehmen wird.[1]) Uebrigens hat man es ja auch hier in seiner Gewalt die Gerinnungszeit durch Hinzufügen einer geringen Menge von zymoplastischen Substanzen abzukürzen.

[1]) Das zugesetzte Kochsalz genügte zur Wiederauflösung der im Dialysator ausgeschiedenen Plasmaglobuline.

Zum Schluss dieses Abschnittes führe ich noch ein paar Versuche an, deren Tendenz nach dem Gesagten von selbst verständlich sein wird.

In einem derselben stellte ich mir nach meiner Methode, durch dreimaliges Fällen und Wiederauflösen, drauffolgendes Filtrieren, Abschaben vom Filtrum, Suspendieren in Wasser und sehr vorsichtiges Auflösen mit höchst verdünnter Natronlauge eine alkalische und zugleich nahezu ganz salzfreie Globulinlösung dar. Von derselben wurden zunächst drei Proben abgenommen, von welchen die erste sich selbst überlassen blieb, die zweite einen Zusatz von 0,7 % NaCl und die dritte von 0,2 $CaCl_2$ erhielt; letzteres erzeugte wegen des geringen Alkaligehaltes (resp. Alkaliüberschusses) in der Lösung eine schwache Trübung von ausgeschiedenem Kalk, was indess die Gerinnung nicht im mindesten störte. Drei andere Proben wurden ebenso behandelt, mit dem Unterschiede jedoch, dass sie ausserdem mit $^1/_5$ Volum einer sehr verdünnten, aus Rinderblutserum nach der gewöhnlichen Methode dargestellten Thrombinlösung versehen wurden. Ich will diese beiden Reihen durch die Nummern I, II, III (ohne Thrombinzusatz) und 1, 2, 3 (mit Thrombinzusatz) von einander unterscheiden.

Probe I. Gerinnung nach 4 Tagen mit feinen Flöckchen beginnend, die kaum zu rechnen und nach ein paar weiteren Tagen zu zerfallen beginnen.

Probe II (mit NaCl). Gerinnung nach 7 Stunden beginnend, nach 9 Stunden homogene Gallerte.

Probe III (mit $CaCl_2$). Gerinnung nach $1\,^1/_2$ Stunden beendet, homogene Gallerte.

Probe 1, nach 4 Stunden feine Flöckchen, aber wegen Salzmangel von keiner vollständigen Gerinnung gefolgt.

Probe 2 (mit NaCl). Gerinnung nach $1\,^3/_4$ Stunden, homogene Gallerte.

Probe 3 (mit $CaCl_2$). Gerinnung nach 25 Minuten, homogene Gallerte.

Bei Vergleichung der drei Proben der ersten Reihe unter einander sieht man, wie das Thrombin sich unter der Einwirkung der Salze entwickelt hat, was die Anwesenheit des betreffenden Bildungsmaterials in der Globulinlösung beweist, während die zweite Reihe zeigt, dass auch die Fermentwirkung durch die angewandten Salze günstig beeinflusst wird. Man bemerkt aber zugleich, dass das $CaCl_2$ in beiderlei Hinsicht das NaCl an Wirksamkeit übertrifft.

In einem zweiten Versuch löste ich die nach derselben Methode gereinigten Plasmaglobuline statt mit verdünnter Natronlauge mit der grade erforderlichen Menge Kochsalzlösung auf, theilte die Lösung dann in mehrere Theile und bestimmte die Ueberschüsse an diesen Salzen, welche erforderlich waren, um die Gerinnung der Proben trotz des Zusatzes 1, von $CaCl_2$ allein, 2, von $CaCl_2$ und zymoplastischen Substanzen, und 3, von Thrombin zu unterdrücken. Abgesehen von den Proben mit Thrombinzusatz kam es mir hier also besonders darauf an, das Thrombin aus dem in der Lösung selbst enthaltenen, von den Globulinen eingeschlossenen Material sich entwickeln zu lassen; deshalb reinigte ich die Globuline auch nur durch zweimaliges Fällen und Wiederauflösen, denn ich wusste schon aus Erfahrung, dass es in Hinsicht auf die Quantität jener Einflüsse einen grossen Unterschied macht, ob jene Operation zwei- oder dreimal ausgeübt wird. Da ich über wenig Material verfügte, so musste ich die vom Filtrum abgeschabte Substanz in sehr viel Wasser suspendieren, was für meine Versuchszwecke jedoch ohne Belang war. Nachdem ich die Substanz durch kräftiges Schütteln möglichst gleichmässig im Wasser vertheilt hatte, wurde in einer Probe der Rückstand bestimmt; er betrug 0,237 % des dünnen Breies.

Jetzt wurde dieser dünne Brei, wiederum nach kräftigem Schüt-

teln rasch in vier Theile getheilt, in jedem derselben zunächst die freivertheilte Substanz mit der zureichenden Menge concentrierter Salzlösung von bekanntem Gehalt unter Schütteln aufgelöst, dann aber mittelst einer graduierten Pipette sofort ein Ueberschuss hinzugefügt, so zwar, dass er auf trockenes Kochsalz berechnet, in der ersten Portion das doppelte, in der zweiten das vierfache, in der dritten das achtfache und in der vierten das zwölffache des Globulingewichtes betrug. Aus jeder dieser vier Portionen gewann ich vier Proben, von welchen die eine sich selbst überlassen blieb, die zweite einen Zusatz von 0,2 % $CaCl_2$, die dritte ebendasselbe und ausserdem noch einen Zusatz von zymoplastischen Substanzen (5 Tropfen einer dünnen Emulsion auf 8 Ccm.) erhielt und die vierte mit dem halben Volum einer sehr wirksamen Thrombinlösung gemischt wurde.

Portion I. Verhältniss des Globulins zum NaCl = 1 : 2.

Probe 1, (sich selbst überlassen), Gerinnung nach 4 1/2 Stunden.
„ 2, (mit $CaCl_2$), Gerinnung nach 1 1/2 Stunden.
„ 3, (mit $CaCl_2$ u. zymopl. Subst.), Gerinnung nach 40 Minuten.
„ 4, (mit Thrombin), Gerinnung nach 20 Minuten.

Portion II. Verhältniss des Globulins zum NaCl = 1 : 4.

Probe 1, (sich selbst überlassen), nach 8 1/4 Stunden.
„ 2, (mit $CaCl_2$), Gerinnung nach 4 Stunden.
„ 3, (mit $CaCl_2$ u. zymopl. Subst.), Gerinnung nach 2 1/2 Stunden.
„ 4, (mit Thrombin), Gerinnung nach 45 Minuten.

Portion III. Verhältniss des Globulins zum NaCl = 1 : 8.

Probe 1, (sich selbst überlassen), Gerinnung nach 50 Stunden.
„ 2, (mit $CaCl_2$), Gerinnung nach 23 Stunden.
„ 3, (mit $CaCl_2$ u. zymopl. Subst.), Gerinnung nachts.
„ 4, (mit Thrombin), Gerinnung in 3 1/4 Stunden.

Portion IV. Verhältniss des Globulins zum NaCl = 1 : 12.

Probe 1, (sich selbst überlassen) gerann gar nicht.

„ 2. (mit $CaCl_2$) desgl.

„ 3. (mit $CaCl_2$ u. zymopl. Subst.) Gerinnung nach ca. 30 Stunden.

„ 4. (mit Thrombin) Gerinnung nach 9 Stunden.

Es ergiebt sich aus diesen Versuchen, 1. dass in den salzigen Globulinlösungen eine spontane Thrombinentwickelung stattfand, zu deren Unterdrückung eine Kochsalzmenge erforderlich war, die mehr als das 8fache des Globulingewichtes betrug, 2. dass diese Thrombinentwickelung durch einen Zusatz von $CaCl_2$, noch mehr aber von einer Combination von $CaCl_2$ und zymoplastischen Substanzen in hohem Grade befördert wurde, so dass die Wirkung dieser Combination selbst bei einem Verhältniss von 12 Th. Kochsalz zu 1 Th. Globulin nicht ganz unterdrückt war. Ferner ersieht man auch aus diesen Beispielen wie viel leichter der Spaltungsvorgang, aus welchem das Thrombin hervorgeht, durch das NaCl unterdrückt wird, als der eigentliche durch das freie Thrombin eingeleitete Gerinnungsvorgang.

Ich will hierzu bemerken, dass ich in allen diesen Präparaten auch durch Zusatz von zymoplastischen Substanzen allein eine Beschleunigung der Gerinnung erzielte, die im Allgemeinen von der Grösse des Zusatzes abhing, und oft bedeutender war als die durch $CaCl_2$ allein erzielte, immer aber hinter der durch eine Combination dieser Substanzen mit $CaCl_2$ bewirkten zurückblieb.

Wenn es auffallen sollte, dass bei so überwiegenden Salzmengen, doch immer noch das Ferment abgespalten werden konnte, so ist zu bedenken, dass in diesen Versuchen das Gerinnungsmaterial durch die Methode der Reindarstellung der Globuline von den specifischen, im Plasma nie fehlenden, die Spaltung des Prothrombins hemmenden Stoffen befreit worden war. Beim gewöhn-

lichen Blutplasma beobachten wir, trotz der Gegenwart jener spaltungshemmenden Stoffe ein ähnliches, wenn auch nicht ebenso extremes Verhältniss; denn wenn es auch nicht ohne weiteres möglich ist, die Gesammtmenge der darin enthaltenen Globuline genauer anzugeben, so ist doch so viel sicher, dass sie um ein mehrfaches kleiner ist, als die Kochsalzmengen, welche nöthig sind, um die Gerinnung des Plasmas, d. h. also auch, um die Prothrombinspaltung, dauernd zu unterdrücken.

Drittes Kapitel.

Ueber die angebliche specifische Bedeutung der Kalksalze für die Faserstoffgerinnung.

In dem bereits veröffentlichten ersten Theil dieser Untersuchungen[1]) habe ich die Frage der Faserstoffgerinnung im engeren Sinne nur kurz berührt, weil mir vor Allem am Herzen lag die viel tiefer liegenden, zunächst das Blut, dann aber auch den gesammten Organismus betreffenden Thatsachen, welche ich, von der Faserstoffgerinnung ausgehend, ermittelt hatte, zusammenhängend zu entwickeln, um von dieser Grundlage aus dann vielleicht noch ein Mal auf die Gerinnung zurückzukommen. Ich begnügte mich also damit in wenigen Worten an meine Auffassung des eigentlichen Gerinnungsaktes zu erinnern und hielt mich zu einem solchen Verhalten um so mehr für berechtigt, als ich bei ihr schon seit bald zwanzig Jahren unbeirrt stehen geblieben war, wie ich sie noch jetzt festhalte, und annehmen zu dürfen glaubte, dass was ich und meine Schüler darüber mittlerweile geschrieben hatten, den Augen Anderer doch nicht ganz entgangen sein konnte. Mit den Auffassungen mancher meiner Mitarbeiter stimme ich keineswegs überein, aber diese Widersprüche betreffen bis jetzt naturgemäss nur den Gerinnungsakt im engsten Sinne; ich hätte zwar viel zu sagen gehabt, wenn ich mich auf eine Diskussion der von mir als falsch erkannten Gerinnungstheorieen eingelassen hätte, besonders da sie auch unter einander nicht übereinstimmen, meiner eigenen Arbeit aber wäre dies nicht zu gute gekommen,

[1]) Al. Schmidt. Zur Blutlehre. Leipzig 1892. Verlag von F. C. W. Vogel.

denn ich hätte dabei die Darstellung durch Controversen und polemische Auseinandersetzungen in Bezug auf Dinge zerstückelt, welche planmässig nicht in die Arbeit hineingehörten. Dies zu thun versparte ich mir für später und meine denjenigen gegenüber, die mir ihre Unzufriedenheit damit zu erkennen gegeben haben, dass man es schliesslich doch dem Autor überlassen muss, die Ordnung zu bestimmen, in welcher er die Früchte seiner Arbeit dem Leser mittheilt.

Aber ich habe in meiner letzten Arbeit einen Standpunkt, wenngleich in wenigen Zeilen, durchaus gewahrt, indem ich die Faserstoffgerinnung als denjenigen Vorgang definierte, „bei welchem unter der Einwirkung eines specifischen Ferments aus einem eiweissartigen Material“ — den im Text vorher erwähnten Globulinen — „ein an sich in der Mutterflüssigkeit löslicher Eiweisskörper entsteht, welcher aber wie viele andere kolloidale Stoffe (z. B. die flüssige Kieselsäure) die Eigenthümlichkeit besitzt, schon durch sehr geringe Mengen krystalloider Substanzen in die unlösliche Modifikation übergeführt zu werden und sich somit auszuscheiden“.[1]) Ich mache hierbei darauf aufmerksam, dass in den kurzen dieser De-

[1]) „Zur Blutlehre“ p. 13. In einer Definition der Faserstoffgerinnung, die nur die thatsächlichen Bedingungen angeben soll, unter welchen eine ursprünglich gelöste globulinartige Substanz schliesslich als ein unlöslicher Eiweisskörper ausgeschieden wird, kann das Ferment natürlich nur als gegebene Grösse in Betracht kommen, wie in ihr auch nur von der coagulierenden, auf den kolloidalen Faserstoff sich beziehenden Wirkung der Salze die Rede sein kann. Eine Bezugnahme dieser Definition auf die Entstehung des Ferments sowie auf die Mitwirkung der Salze bei der Prothrombinspaltung wäre nicht am Platze, weil diese Vorgänge, wenngleich sie dort, wo sie vorkommen, die nothwendige Voraussetzung der Gerinnung bilden, von der letzteren sich doch als ihrem Wesen nach ganz andersartige Processe unterscheiden und ihnen auch zeitlich vorausgehen, wie sie ja auch ganz unabhängig von der Faserstoffgerinnung stattfinden können, z. B. im Blutserum.

finition vorausgehenden und ihr nachfolgenden Erörterungen nur von Neutralsalzen im Allgemeinen als den krystalloiden Bestandtheilen der gerinnbaren Körperflüssigkeiten die Rede ist und nicht etwa blos von Alkalisalzen und dass ich in einer Anmerkung zu S. 222 ausserdem ausdrücklich hervorhebe, dass auch die Salze der alkalischen Erden den flüssigen Faserstoff in der unlöslichen Modification ausscheiden, d. h. ihn coagulieren.

In meinen früheren Arbeiten und in denen meiner Schüler ist die Rolle aufgedeckt worden, welche die Salze, als deren Repräsentanten wir das Kochsalz benutzten, bei der Fibrinausscheidung spielen. Die qualitative Gleichheit unserer Ergebnisse mit denen, welche andere Forscher mit den Kalksalzen erzielten, war unschwer zu erkennen, aber sie wurde nicht beachtet; statt dessen beschränkte sich die Forschung, den Blick vom Allgemeineren abwendend, mehr und mehr auf die Kalksalze allein und gelangte so zu Ergebnissen, welche ich jetzt bekämpfen muss.

Ich habe ferner stets auf die proplastischen Transsudate als auf die einzige Quelle hingewiesen, aus welcher sich die fibrinogene Substanz in idealster reinster Gestalt gewinnen lässt, und deshalb auch von vorneherein diese Flüssigkeiten meinen Untersuchungen zu Grunde gelegt; dass ihre hervorragende Brauchbarkeit als Untersuchungsobjekte in dem Umstande begründet war, dass sie weder zymoplastische Substanzen noch Prothrombin enthielten, habe ich freilich erst später erkannt. Jedenfalls lagen die Verhältnisse hier einfach genug und konnten die Bedingungen willkürlich genug combiniert werden, um leichter als durch das Studium der Blutgerinnung zur Erkenntniss der wesentlichen Gerinnungsursachen zu gelangen, und von hier aus habe ich es denn auch versucht in die verwickelteren Verhältnisse der Blutgerinnung einzudringen. Man hat auch das unbeachtet gelassen; das viel complicierte Blutplasma diente als Material zur Darstellung der fibrinogenen Substanz, und indem man sie dabei unter Verhältnisse brachte, unter welchen sie „spontan“ gar nicht gerinnen konnte, so wenig

sie dies unter gleichen Verhältnissen im Blutplasma selbst vermocht hätte, glaubte man die reine fibrinogene Substanz in Händen zu haben. In diesem Glauben übersah man, dass die wahren Gerinnungsursachen im Verborgenen stets mit dabei waren, und indem man ihnen durch gewisse äussere Einwirkungen zur Ueberwindung der ihnen entgegenstehenden Widerstände und somit zur Entfaltung ihrer specifischen Thätigkeit verhalf, gewann man irrthümliche Anschauungen über die Natur und Bedeutung dieser äusseren Einwirkungen und gelangte schliesslich dahin, den Faserstoff für eine Kalkverbindung zu erklären.

Dass ich diesen Anschauungen niemals habe beitreten können, wird jeder verstehen, der diese Arbeit liest. Ich hoffe zugleich den Beweis geliefert zu haben, dass jene Definition auf keiner „neuen" Gerinnungstheorie, sondern auf einer schon recht alten, bald zwanzigjährigen, fusst. Was mein Buch Neues bringt, hat zunächst nichts mit der Gerinnungstheorie selbst zu thun. Dass unter anderem das Paraglobulin bei der Faserstoffgerinnung sich nicht indifferent verhält, ist von mir als Beobachtungsthatsache immer behauptet worden; jetzt habe ich nur eine Erklärung für diese Thatsache gegeben und zwar auf Grundlage der alten Gerinnungstheorie. —

Der erste Schritt zur Entscheidung der Frage, ob der Faserstoff eine Kalkverbindung darstellt, besteht offenbar in der Untersuchung seiner Asche. Bekanntlich giebt Brücke an, dass der Faserstoff die Phosphorsäure bei weitem nicht in der Menge enthalte um mit der Gesammtheit der Basen phosphorsauren Kalk und phosphorsaure Ammoniakmagnesia zu bilden.[1]) Dies könnte richtig sein, ohne dass der Faserstoff deshalb als Kalkverbindung aufgefasst werden müsste, da es sich vielleicht nur um kalkhaltige Einschlüsse handelt. Von wesentlicher Bedeutung scheint mir

[1]) E. Brücke. Ueber die Ursache der Gerinnung des Blutes. Virch. Arch. Bd. XII, 1857 p. 185—188.

aber, dass Brücke den Faserstoff nicht verascht, sondern ihn mit verdünnter Salzsäure resp. mit Essigsäure extrahiert und das Extrakt mit verschiedenen Fällungsmitteln analysiert hat, ferner noch mehr, dass sein Material „wohl ausgewaschenes Ochsenfibrin" war, das ist aber kein reiner Faserstoff, denn er schliesst in ungeheurer Menge die in Wasser, Alkohol und Aether unlöslichen Bestandtheile der rothen sowie auch der farblosen Blutkörperchen ein, den Stoff den ich bei den letzteren als Cytin und bei den ersteren als dem Cytin nahestehend bezeichnet habe. Die Asche des Cytins aber enthält, wie ich mich bei dem aus Lymphdrüsen- und aus Leberzellen gewonnenen überzeugt habe, Kalk. Das Cytin der farblosen Blutkörperchen wird in dieser Hinsicht wohl kaum eine Ausnahme bilden und es ist durchaus möglich, dass dasselbe auch von dem unlöslichen Rückstand der rothen Blutkörperchen gilt. Weiterhin werde ich den Nachweis liefern, dass verdünnte Salzsäure sowohl als Essigsäure das Cytin zerlegen, wobei Produkte unbekannter Art, die möglicherweise kalkhaltig sind, in die saure Lösung übergehen. Dies zusammengenommen machte mir Brücke's Ergebnisse verdächtig. Deshalb habe ich nicht sein Verfahren eingeschlagen, sondern die durch Verbrennen erhaltene Faserstoffasche untersucht. Den Faserstoff aber gewann ich aus absolut klar filtriertem Pferdeblutplasma, das ich, um eine erschöpfende Gerinnung zu erzielen, drei Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrt hatte. Er liess sich sehr leicht von der Flüssigkeit trennen und zu einem zähen, faserigen Klumpen zusammendrücken. Weniger als 80—100 Ccm. habe ich zur Faserstoffgerinnung nicht benutzt.

Ich verfuhr anfangs wie gewöhnlich, d. h. ich entfernte erst durch Pressen unter Wasser, das immer wieder erneuert wurde, das eingeschlossene Serum so weit, dass der Faserstoff schon bei dieser Manipulation ganz schneeweiss wurde; dann wusch ich ihn auf einem Filtrum gründlich erst noch mit Wasser, dann mit 3procentiger Kochsalzlösung, wiederum mit Wasser, schliesslich einigemal mit Alkohol und Aether aus. Dann wurde er, mit

etwas kohlensaurem Natron befeuchtet, im Platintiegel getrocknet, verkohlt, die Kohle mit Wasser extrahiert, filtriert, Filtrum mit Kohle getrocknet, geglüht, die Asche in verdünnter Salzsäure aufgenommen, filtriert und das Filtrat mit Ammoniak übersättigt.

Es entstand jedesmal eine Trübung, aber sie war äusserst unbedeutend, so dass von einer Wägung gar nicht die Rede sein konnte; das Auge ist eben der Wage in dieser Hinsicht unendlich überlegen. Nach einiger Zeit wurde der phosphorsaure Kalk durch Filtrieren entfernt und ein Theil des Filtrates mit oxalsaurem Ammon geprüft. Es entstand wieder eine höchst geringe Trübung, aber in dem anderen Theil des Filtrates liess sich sowohl mit der bekannten Magnesiamixtur als mit molybdänsaurem Ammon und Salpetersäure Phosphorsäure nachweisen. Nicht mit überschüssigem Kalk hat man es also hier zu thun, sondern mit in Lösung gebliebenem phosphorsaurem Kalk, also mit einem unvermeidlichen Fehler der Methode; sie bewirkt eben keine absolute Fällung weil das Chlorammonium Spuren von Tricalciumphosphat löst. An dem Filtrat einer mit Ammoniak übersättigten salzsauren Lösung von chemisch reinem Tricalciumphosphat kann man sich hiervon leicht überzeugen.

Ich begann nun den ausgewaschenen Faserstoff mit Rücksicht auf seine Einschlüsse gründlicher, als es bisher geschehen mit Alkohol zu extrahieren, anfangs 24 Stunden, dann 3 und zuletzt 14 Tage lang, wobei ich den Alkohol mehrmals erneuerte und schliesslich zu absolutem griff. Dadurch reducierte ich seinen Aschengehalt bis aufs äusserste, so dass es dem Auge zuletzt schwer wurde bei den obigen Reaktionen überhaupt irgend etwas zu erkennen. Zuweilen blieb die salzsaure Flüssigkeit beim Uebersättigen mit Ammoniak zunächst ganz klar; erst nach einigen Stunden, selbst erst am folgenden Tage konnte das Auge beim Bewegen und Schütteln etwas wie einen feinen Staub in der Flüssigkeit wahrnehmen. Entsprechend minimale Spuren sowohl von Phosphorsäure als von Kalk liessen sich dann auch im Filtrat

nachweisen: ja es kam ein paarmal vor, dass die letztere Reaktion noch ein sichtbares Resultat gab, wo der salzsaure Aschenauszug nach Uebersättigung mit Ammoniak bei tagelanger Beobachtung überhaupt gar nichts von einer Fällung wahrnehmen liess. Hier betrug also der Phosphorsäure- und Kalkgehalt des Faserstoffs an Masse nicht mehr, als von dem Chlorammonium gelöst werden konnte. Aber auch was die getrennten Prüfungen der mit NH_3 übersättigten Flüssigkeit auf Kalk resp. auf Phosphorsäure ergaben, bewegte sich in den Grenzen des schwer sichtbaren und erst spät auftretenden, namentlich was die Phosphorsäure anbetraf. Der Nachweis dieser Säure bildet ja überhaupt einen der kritischen Punkte der Chemie, während die Reaktion des Kalks gegen Oxalsäure zu den empfindlichsten und leichtwahrnehmbarsten gehört.

Soll nun der Faserstoff etwa eine Eiweisstricalciumphosphatverbindung darstellen? Gegen eine solche Vorstellung spricht doch die Thatsache, dass die Phosphorsäure und der Kalk um so mehr aus der Faserstoffasche verschwanden, je anhaltender ich den Faserstoff mit Alkohol und Aether extrahiert hatte, so dass die zuletzt auftretenden Spuren derselben denjenigen gegenüber, welche bei weniger energischer Reinigung des Faserstoffs sich bemerkbar machten, gewissermassen als Spuren zweiter Ordnung, als Spuren von Spuren erscheinen. Dieselbe Thatsache spricht auch gegen die Annahme, dass das Tricalciumphosphat erst beim Veraschen dadurch entsteht, dass ein vom Faserstoff eingeschlossener phosphorhaltiger Atomcomplex dazu die Phosphorsäure und der Faserstoff den fraglichen mit ihm verbundenen Kalk liefert. Viel näher liegt wohl der Gedanke, dass es sich um mechanische Einschlüsse phosphor- und kalkhaltiger Atomcomplexe im Faserstoff handelt, und solche sind immer vorhanden und lassen sich leicht nachweisen.

Dampft man den alkoholischen Auszug aus gut mit Wasser und verdünnter Kochsalzlösung ausgewaschenem Faserstoff ein, so hinterlässt er einen gelblichen Rückstand, der sich als aus zymo-

plastischen Substanzen bestehend ausweist; dasselbe gilt von einem zweiten Auszug und so fort; ein Ende ist gar nicht zu erreichen, wenn auch die Rückstände immer unbedeutender werden. Ich habe einmal den Faserstoff, nachdem er acht Tage lang unter absolutem Alkohol gelegen, mit demselben Mittel zehnmal nach einander ausgekocht, den Alkohol vom elften Male aber dampfte ich in einer Porzellanschale ein. Er hinterliess doch noch einen Rückstand und wenn dieser auch so gering war, dass er nur bei gewissen Stellungen der Schale zum Licht sichtbar wurde, so weiss doch niemand anzugeben, wie viel von dem betreffenden Stoff noch im Faserstoff zurückgeblieben war.

Eine Quelle für den Phosphorsäuregehalt der Faserstoffasche wäre also gefunden, denn die zymoplastischen Substanzen enthalten sehr viel Phosphor. Aber ihr Kalkgehalt ist nahezu Null, wenigstens fand ich es so bei derjenigen Substanzgruppe, die ich durch anhaltendes Extrahieren von Lymphdrüsenzellen mit Alkohol gewinne. Da dieser Punkt uns später von Wichtigkeit sein wird, so will ich hier beiläufig erwähnen, dass ich die Asche vom Trockenrückstand des alkoholischen Lymphdrüsenzellenextraktes dreimal untersucht habe, und zwar das eine Mal von 2,5, das zweite Mal von 3,6 und das dritte Mal von 4,8 Gr. Rückstand und stets nur Spuren von phosphorsaurem Kalk vorfand, die womöglich noch minimaler waren, als die im Faserstoff gefundenen, trotz der bedeutend grösseren Masse der zur Veraschung gelangten alkoholischen Zellenextraktrückstände. Auf die geringen Mengen der im Faserstoff eingeschlossen bleibenden zymoplastischen Substanzen, ausser der Phosphorsäure, auch noch den in der Fibrinasche gefundenen Kalk zu beziehen erscheint deshalb kaum möglich. Aber das Blutplasma enthält ja Kalkverbindungen. Diese werden vom Faserstoff miteingeschlossen und hier liegt die Quelle des Kalkgehaltes der Fibrinasche. In einem Versuche sammelte ich die Alkoholextrakte des Faserstoffs und dampfte sie ein. Die Asche des Rückstands enthielt deutlich nachweisbar phosphorsauren Kalk. Die

vom Faserstoff eingeschlossenen Kalkverbindungen des Blutserums sind also gleichfalls in Alkohol löslich, wenigstens theilweise.

Wie der Faserstoff schliesst auch das Paraglobulin bei der Fällung aus verdünntem Blutserum zymoplastische Substanzen und Kalkverbindungen ein und auch hier ist es mir nicht gelungen, diese Verunreinigungen durch wiederholtes Fällen und Wiederauflösen des Paraglobulins ganz fortzuschaffen. Brachte ich den durch mehrfaches Fällen und Wiederauflösen gereinigten Paraglobulinbrei für einige Tage unter Alkohol, filtrierte und dampfte das Fitrat ein, so blieb ein in seiner Asche Phosphorsäure und Kalk enthaltender Rückstand nach, der zwar nach jedesmaligem Fällen und Wiederauflösen an Masse geringer wurde, aber selbst nach sechsmaliger Wiederholung dieser Procedur nicht geschwunden war.

Ich fällte aus einer grösseren Quantität klaren Rinderserums die Kalksalze durch Zusatz von 0,2 % oxalsaurem Kali, liess den Niederschlag von oxalsaurem Kalk sich absetzen, filtrierte die drüberstehende Flüssigkeit durch ein mehrfaches Filtrum, verdünnte das Filtrat mit dem 20fachen Volum Wasser, fällte das Paraglobulin mit Kohlensäure, reinigte dasselbe dann noch einigemal in der gewöhnlichen Weise, sammelte es auf einem Filtrum und wusch es mehrfach mit Wasser aus. Dieses Paraglobulin verhielt sich in allen Dingen wie ganz gewöhnliches. Ich löste etwas von diesem Paraglobulin in einer gewogenen Menge filtrierten Plasmas auf und bestimmte das Faserstoffprocent; ich fand es um ein beträchtliches höher als in der Controlle, es trat also das gewöhnliche Resultat dieses Versuches ein.[1]) Ich habe mein Verfahren auch dahin modificiert, dass ich das oxalsaure Kali nicht zum Blutserum sondern zu der alkalischen Lösung des schon einigemal gereinigten Paraglobulins hinzufügte, wobei stets eine schwache Fällung von Kalkoxalat stattfand, filtrierte, das Paraglobulin fällte u. s. w.

[1]) Die genaueren Angaben über diese Versuche werden später mitgetheilt werden.

ohne dass dasselbe irgend welche Abweichung vom gewöhnlichen Verhalten gezeigt hätte. Diesen Erfahrungen gemäss stellt sicherlich das Paraglobulin keine Kalkverbindung dar.

Auch die aus einem grösseren Volum eines proplastischen Transsudates (gesammelte Höhlenflüssigkeiten von mehreren Pferden) auf dieselbe Weise wie das Paraglobulin gereinigte fibrinogene Substanz schloss bis zuletzt Kalkverbindungen ein. In einem Theil dieses Transsudates fällte ich die Kalkverbindungen mit 0,2 % oxalsaurem Kali, filtrierte und mischte das Filtrat im Verhältniss von 1 : $^1/_2$ mit Thrombinlösung; nach kaum einer halben Stunde war eine ebenso vollständige Gerinnung eingetreten, wie in der aus dem unverändert kalkhaltigen Transsudat und Thrombinlösung bestehenden Controllprobe. Ich bemerke hierzu, dass das Serumcoagulum, aus welchem ich die Thrombinlösung gewann, 4 Monate unter Alkohol gelegen hatte und dass die letztere durch Kaliumoxalat nicht im geringsten getrübt wurde.

Wir sehen also, dass sowohl das Paraglobulin als auch die fibrinogene Substanz, indem sie sich in fein vertheilter Gestalt ausscheiden, kalk- und phosphorhaltige Atomcomplexe einschliessen, und es ist wohl nicht zu bezweifeln, dass der Faserstoff bei seiner Art der Ausscheidung dasselbe zu thun in noch günstigerer Lage ist. Hier wie dort werden diese Einschlüsse um so vollständiger entfernt, je häufiger man die Reinigungsprocedur wiederholt, ohne dass die sie einschliessenden Substanzen selbst dabei irgend eine nachweisbare Veränderung ihrer Eigenschaften erleiden; sie erscheinen also als etwas Fremdes, Zufälliges. Das Paraglobulin aber vermehrt wie gewöhnlich das Faserstoffgewicht und aus der fibrinogenen Substanz entsteht wie gewöhnlich Faserstoff, nachdem man die Kalksalze aus ihren natürlichen und künstlichen Lösungen auf chemischem Wege fortgeschafft hat; ist es da glaublich, dass der Faserstoff eine Kalkverbindung ist?

Die Resultate der Aschenanalyse sind jedenfalls dieser An-

nahme durchaus nicht günstig: ich meine sogar sie sprechen entschieden gegen sie. Es fragt sich nun aber weiter, wie die vielen Gerinnungsversuche zu erklären sind, welche für sie in's Feld geführt werden.

Sehe ich zunächst von den Versuchen von Arthus und Pagès ab, so habe ich es fast nur mit solchen zu thun, die mit dem sog. Hammarsten'schen Fibrinogen ausgeführt worden sind. Ueber die Darstellung dieser Fibrinogenlösung und über das, was sie enthält, habe ich schon gesprochen.

Nun ist gezeigt worden, dass diese Fibrinogenlösung nicht von selbst gerinnt[1]), sondern erst nach Zusatz von Thrombin — ganz natürlich — ferner, dass die durch das Thrombin bewirkte Gerinnung derselben durch Hinzufügung von $CaCl_2$ oder von $CaSO_4$ befördert wird — ebenfalls ganz natürlich; weiter füge ich meinerseits, — gleichfalls als ganz natürlich — hinzu, dass auch ein Zusatz von zymoplastischen Substanzen in derselben Weise befördernd auf die Gerinnung wirkt und endlich, dass in einer solchen, neben dem Fibrinogen und Thrombin Kochsalz in ungeheurem Ueberschuss enthaltenden Flüssigkeit ein Kochsalzzusatz in keiner Weise die Gerinnung günstig beeinflussen kann, da er unter solchen Umständen ja nur dazu dient den Ueberschuss des gerinnungshemmenden Mittels noch zu vergrössern.[1]) Ich habe die nach meiner Methode ausgeschiedenen Plasmaglobuline statt in NaCl in überschüssiger concentrierter $CaCl_2$-Lösung aufgelöst und Thrombinlösung hinzugefügt. Sie gerann in etwas über zwei Stunden, aber ein Zusatz von $CaCl_2$ hatte, wenn er klein war, gar keine Wirkung und wenn er grösser war, so verlangsamte er die Gerinnung. NaCl und $CaCl_2$ verhalten sich also in dieser Hinsicht ganz gleich.

Ferner soll das $CaCl_2$ allein auf die Hammarsten'sche Fibrinogenlösung keine Wirkung ausüben; die gleichzeitige An-

[1]) Man denke an den Salzüberschuss.

wesenheit des Fermentes erwies sich also als nothwendig um die Gerinnung herbeizuführen und zugleich die befördernde Wirkung der Kalksalze hervortreten zu lassen, woraus gefolgert wird, dass die Wirkung der letzteren ihrem Wesen nach von der der Kalksalze verschieden sein müsse. Ich kann die thatsächlichen Angaben nur bestätigen, wie auch die Richtigkeit der Folgerung anerkennen; es kommt in Bezug auf die letztere nur darauf an den Unterschied in der Wirkung des Ferments und der Kalksalze auch richtig zu deuten.

Aber alle diese thatsächlichen Angaben sind nur so lange richtig als der grosse Ueberschuss an NaCl in der sogenannten reinen Fibrinogenlösung besteht; sie sind falsch, sobald man ihn fortschafft; man thue dies allmählich, und man wird zu einem Stadium gelangen, wo das Thrombin nicht mehr zur Herbeiführung der Gerinnung erforderlich ist, sondern die Kalksalze zunächst nur in Verbindung mit den zymoplastischen Substanzen (man kann ebenso gut sagen, die letzteren in Verbindung mit den ersteren) diesen Effekt hervorbringen; weiterhin genügen die Kalksalze allein und ebenso die zymoplastischen Substanzen allein, um dies zu leisten, und endlich gerinnt die Flüssigkeit ohne irgend eine Zuthat, ganz von selbst.

Das ist der Punkt, auf welchen es hier ankommt. Die Flüssigkeit gerinnt, nachdem man nichts hinzugethan sondern nur etwas weggenommen hat, also aus inneren Gründen, d. h. von selbst und wenn sie zu Anfang nicht von selbst gerann, so war es, weil sie durch äussere Einwirkungen daran gehindert war.

Man bereite sich eine „Fibrinogenlösung“ aus Pferdeblut, bringe sie auf den Dialysator und erneuere viertel- bis halbstündlich das äussere Wasser; sobald der Kochsalzgehalt der Flüssigkeit soweit reduciert ist, dass er sich dem Optimum nähert, welcher den in ihr in Bezug auf die Quantitäten der Substrate der Ferment- und der Fibrinbildung gegebenen Verhältnissen entspricht, so beginnt die Gerinnung und erreicht dann auch sehr schnell ihr

Ende. Der Faserstoff liegt dann als eine weisse Decke auf der trennenden Membran oder er schwimmt in grösseren und kleineren Klumpen in der Flüssigkeit. die letztere aber stellt jetzt eine kräftig wirkende Thrombinlösung dar, entspricht also darin dem bei der natürlichen Blutgerinnung entstehenden Serum. In meinen Versuchen war dieses Ziel in $1^1/_2$ bis 3 Stunden erreicht. Es kommt hierbei natürlich auf das in der Flüssigkeit herrschende Verhältniss zwischen dem Kochsalz und den Substraten der Fibrin- und Fermentbildung an. ferner auf das durch das Waschen mit der Kochsalzlösung wesentlich geänderte Verhältniss der beiden letzteren unter einander und endlich auf die gegebene zymoplastische Energie des zur Darstellung der Fibrinogenlösung benutzten Blutes. Alles dies kann sehr wechseln.

Es ist aber gar nicht nöthig die Dialyse bis zum Eintritt der Gerinnung auf dem Dialysator fortzutreiben; man lasse sie nur $^1/_4$ bis 1 Stunde dauern, entferne die Flüssigkeit alsdann aus dem Dialysator und überlasse sie sich selbst; nach einiger Zeit wird man sie durch und durch geronnen finden, um so früher, je später man die Dialyse unterbrochen resp. die zur Beobachtung bestimmte Probe der Flüssigkeit entnommen hat. Feste Zeitangaben in Betreff der Dauer der Dialyse und des Termins der Gerinnung wird man natürlich von mir nicht erwarten. Beispielsweise führe ich an, dass ich eine nach 20 Minuten der in der Dialyse begriffenen Flüssigkeit entnommene und zufälligerweise an einem kühlen Orte (bei ca. 6—8°) aufbewahrte Probe nach 2 Tagen geronnen fand. Ebensogut kann man aber auch Proben erhalten, die in 5—10 Minuten gerinnen.

Wenn man die sehr bald nach Beginn der Dialyse in kurzen Zeitintervallen der Flüssigkeit entnommenen Proben mit Chlorcalcium und mit zymoplastischen Substanzen untersucht, so wird man, wie ich bereits gesagt habe, zunächst auf solche stossen, welche weder durch das eine noch durch die anderen zum Gerinnen gebracht werden, sondern nur durch beide zusammen, weiterhin

auf solche, bei welchen schon eines von beiden dazu genügt und endlich auf solche, in welchen der Endeffekt ohne jede Zuthat eintritt. Aber man setze dabei, weil es sich um vergleichende Versuche handelt, gewisse Zeitgrenzen für die Gerinnung fest; man sage sich z. B.: die Gerinnung soll spätestens innerhalb 2 Stunden, oder innerhalb 24 Stunden, oder wie man will, erfolgen, weil, was in zwei Stunden oder bis morgen nicht geschieht in drei Stunden oder bis übermorgen geschehen kann. Man wird natürlich auch für Gleichheit seiner Zusätze sorgen. Beim Chlorcalcium ist man in dieser Hinsicht gezwungen sich in engeren Grenzen zu bewegen, da ein Zuviel gerinnungshemmend wirkt; ich habe mich durchweg an das Verhältniss von 0,2 % der Lösung gehalten. Dagegen kann man mit den zymoplastischen Substanzen frei verfahren und wird dann bemerken, dass sie, je nach der Quantität in welcher man sie einwirken lässt, die Gerinnung bald schneller bald langsamer als das $CaCl_2$ herbeiführen.

Man sieht, man hat es bei diesen unter Mitwirkung der Dialyse ausgeführten Versuchen mit derselben, aber in umgekehrter Ordnung erfolgenden, weil durch fortschreitende Verminderung des Kochsalzgehaltes der Flüssigkeit bewirkten Stufenfolge von Erscheinungen zu thun, die in meinen schon beschriebenen Versuchen mit den nach meiner Methode gereinigten, also fast ganz salzfreien Plasmaglobulinen bei steigenden Kochsalzzusätzen uns entgegentrat[1]).

Und die in beiden Versuchsreihen wirkenden Ursachen sind auch die gleichen, nämlich die von den Globulinen eingeschlossenen Substrate der Fermentbildung, deren Wirkung ausserdem dadurch eine relative Erhöhung erfährt, dass die specifischen im Kreislauf aufgespeicherten spaltungshemmenden Plasmabestandtheile durch die zur Isolierung der Globuline benutzten Methoden entfernt worden sind. Nur ein Unterschied besteht zwischen beiden

1) S. p. 87—90.

Methoden und zwar nur ein quantitativer: bei den nach meiner Methode hergestellten Globulinlösungen hört nämlich, weil sie die an jenen Substraten viel ärmeren sind, die Möglichkeit, sie durch $CaCl_2$ und durch zymoplastische Substanzen, einzeln oder zusammengenommen, gerinnen zu machen, viel früher, d. h. bei einem geringeren Salzgehalt auf, als bei Hammarsten's Fibrinogenlösung.

Dass diese Globulinlösungen das Prothrombin enthalten, ergiebt sich schon aus der Thatsache ihrer spontanen Gerinnung auf dem Dialysator, sowie daraus, dass das dabei sich abscheidende Serum bei Prüfung mit den betreffenden Reaktionsflüssigkeiten als eine wirksame Thrombinlösung sich erweist. Dieselben Thatsachen lassen aber auch schliessen, dass sie auch einen Gehalt an zymoplastischen Substanzen besitzen. Letzteres kann nun auch durch Extraktion mit Alkohol ad oculos demonstriert werden. Es ist grade nicht nöthig, zu diesem Zwecke das in den betreffenden Lösungen ausgeschiedene Fibrin zu benutzen, ebenso dienlich sind dazu die breiigen Globulinniederschläge selbst oder ihre Lösungen, wenn sie concentriert sind: ich habe die Benutzung der Fibrine vorgeschlagen mit Rücksicht auf den grossen Salzgehalt der nach Hammarsten dargestellten Präparate, wovon etwas in den Alkohol übergeht. Besser ist es daher, die dialysierte Flüssigkeit nach stattgehabter Gerinnung zusammen mit dem Faserstoff, nachdem man sie, falls sie sehr wasserreich geworden sind, auf dem Dampfbade concentriert hat, in den Alkohol zu bringen. Durch Prüfung des mit etwas Wasser verriebenen Alkoholrückstandes mit filtriertem Plasma oder mit einer Hammarsten'schen Fibrinogenlösung selbst, welche man der Sicherheit wegen schon etwas salzärmer gemacht hat, kann man sich leicht von seiner zymoplastischen Wirksamkeit überzeugen: ist er an Masse sehr gering, so ist es bequemer, ihn in der Abdampfschale direkt mit diesen Flüssigkeiten zu verreiben; übrigens ist er schon vom blossen Ansehen an Farbe, Klebrigkeit u. s. w. zu erkennen. Am massigsten fand ich diesen Rückstand als ich bei der Darstellung von Ham-

marsten's Fibrinogen nicht Magnesiumsulfatplasma sondern nach Pekelharing Oxalatplasma mit der gesättigten Kochsalzlösung fällte; ob das nur Zufall war weiss ich nicht.

Uebrigens bin ich zu denselben Versuchsresultaten auch ohne Anwendung der Dialyse gelangt, einfach indem ich nach beendetem dritten Centrifugieren die Flüssigkeit bis möglichst nahe zur Grenze des Niederschlages entfernte und dem letzteren sein gleiches bis $1\,^1/_2$ faches Volum Wasser hinzufügte, leicht schüttelte und noch ein Mal etwa 2—5 Minuten lang centrifugierte; der Niederschlag senkt sich übrigens jetzt sehr schnell, so dass das Centrifugieren wohl überflüssig sein dürfte, darauf goss ich wieder die Flüssigkeit ab, womit ich einen grossen resp. den grösseren Theil des Kochsalzes entfernte. Jetzt wurde unter Schütteln Wasser hinzugefügt bis der Niederschlag sich löste, was zu bewirken der ihm noch anhaftende Kochsalzrest vollkommen genügte. Diese Lösungen gerannen im Laufe von 1—2 Tagen von selbst und waren ausgezeichnet geeignet zur Demonstrierung der beschleunigenden Wirkung der zymoplastischen Substanzen sowohl als des Chlorcalciums. Da man aber durch den Wasserzusatz die gesättigte Kochsalzlösung in eine mässig concentrierte verwandelt, so erleidet man Verluste an Substanz, die aber nicht bedeutend sind, weil dieselbe sich ziemlich langsam auflöst.

Auch beim Dialysieren erleidet man Verluste, ebenso und wohl aus denselben Gründen wie beim Dialysieren des Magnesiumsulfatplasmas. Stammt die Globulinlösung aus Pferdeblutplasma, so haben diese Verluste nichts zu bedeuten; in zwei Versuchen, in welchen ich sie aus Hundeblut gewonnen hatte, machten die Verluste sich indess fühlbar, ich weiss nicht, ob wegen einer besonders grossen Diffusionsfähigkeit der Hundeglobuline, oder weil von ihnen beim Fällen und Wiederauflösen noch weniger übriggeblieben war, als es bei den Pferdeglobulinen der Fall war. Mit Thrombinlösung versetzt entstand ein zusammenhängendes, die ganze Flüssigkeit einschliessendes Gerinnsel. Auf dem Dialysator aber trat die Gerin-

nung nur in Gestalt von vereinzelten Flocken und Klümpchen ein, und im flüssigen Theil waren nur noch Globulinspuren enthalten. Zu beiden Versuchen benutzte ich einen und denselben Dialysator und es könnte sein, dass die trennende Membran einen kleinen Defekt hatte.

Wenn man eine „Fibrinogenlösung" mit einer Thrombinlösung zur Herbeiführung ihrer Gerinnung mischt, was doch gewöhnlich mindestens zu gleichen Theilen geschieht, so bringt man damit doch nicht bloss das Ferment in sie hinein, sondern man setzt auch zugleich den übergrossen rel. Salzgehalt herab und erleichtert dadurch nicht bloss ihm die Arbeit sondern auch den ihm eventuell zu Hülfe beigegebenen zymoplastischen Substanzen oder dem Chlorcalcium. Man verdünne nun einmal die Flüssigkeit statt mit der Thrombinlösung einfach mit ebensoviel Wasser, füge nun zymoplastische Substanzen oder Chlorcalcium oder beides zusammen hinzu und warte den Erfolg ab. Ich will nicht für jedes Mal garantieren aber doch für manche Male und bei diesen Versuchen gilt es überhaupt den Tag nicht vor dem Abend, der die Fäulniss bringt, loben.

Soll ich nach alledem noch erklären, wie die neben dem Thrombin in die salzige Globulinlösung gebrachten zymoplastischen Substanzen resp. das Chlorcalcium, die ersteren als die eigentlichen und natürlichen Zerleger des Prothrombins, das letztere als ein äusserst die Spaltung desselben begünstigender und zugleich heftig coagulierend wirkender Faktor, dem Ferment bei seiner Thätigkeit Hülfe leisten, wie sie weiterhin allein mit der Aufgabe die Flüssigkeit zum Gerinnen zu bringen fertig werden und wie endlich auch sie überflüssig sind, weil die verborgenen aber in der Flüssigkeit von Anfang an enthaltenen Gerinnungsursachen freie Bahn finden ihre Thätigkeit zu entfalten?

Hammarsten's Fibrinogenlösung ist keine Lösung reinen Fibrinogens; denn sie enthält ausser demselben in allerdings reducierten und zugleich wechselnden Mengenverhältnissen noch alles

andere, was den Gerinnungsapparat ausmacht; sie ist Plasma, dessen nicht zu diesem Apparat gehörigen Bestandtheile entfernt und durch eine gesättigte Kochsalzlösung ersetzt worden sind. Dasselbe kann man auch von den nach meiner Methode gewonnenen Lösungen der Plasmaglobuline sagen, nur dass sie viel gründlicher vom Substrat der Fermentbildung befreit sind und der Ersatz der übrigen Plasmabestandtheile nicht durch eine gesättigte Kochsalzlösung, sondern durch Wasser, das nur soviel Kochsalz (oder Natron) enthält, als zur Auflösung des Globulins erforderlich ist, stattgefunden hat. Beide Lösungen sind zu Untersuchungszwecken brauchbar, aber man muss wissen, was in ihnen steckt, um die Versuchsresultate nicht misszuverstehen.

So lange in Hammarsten's Globulinlösung das Kochsalz noch im Ueberschuss vorhanden ist, so lange kann natürlich von einer gerinnungsbefördernden Wirkung eines Kochsalzzusatzes nicht die Rede sein; ist aber während der Dialyse das Optimum des Salzgehaltes erreicht, so erfolgt die Gerinnung, und es wäre wieder unmöglich zu zeigen, dass auch in diesen Lösungen das $NaCl$ in qualitativ gleicher Weise wie das $CaCl_2$ die Gerinnung befördern kann. Das ist aber nur theoretisch gedacht, thatsächlich ist es doch möglich. Wenn man nämlich rasch dialysiert, so überschreitet man auch rasch den Punkt des Optimismus; die Spaltungen haben zwar begonnen, aber sie werden wieder träger, es hat sich zwar Faserstoff gebildet, aber es ist noch Bildungsmaterial vorhanden. Nimmt man nun in diesem Stadium die Flüssigkeit heraus, so wird sie zwar immer von selbst gerinnen, aber doch langsam genug um die beschleunigende Wirkung kleiner Kochsalzzusätze erkennen zu lassen.

Auch durch eine äusserst schwache viertelstündliche Alkalescenzerhöhung gelang es mir die Hammarsten'sche Fibrinogenlösung, nachdem ich sie etwas salzärmer gemacht hatte, zu beschleunigter Gerinnung zu veranlassen, ein weiterer Beweis für ihren Gehalt

an Prothrombin; aber wegen der Kleinheit desselben ist dieses Verfahren nicht zu empfehlen.

Die Hammarsten'sche Fibrinogenlösung soll reines Fibrinogen enthalten, weil sie nicht von selbst gerinnt, sondern nur bei Gegenwart von Thrombin. Nun gerinnt sie aber auch doch von selbst und es ist mir unverständlich, wie dies unbemerkt bleiben konnte.

Nach Hammarsten kann man nach beendetem Centrifugieren die salzreiche Globulinlösung, um sie zu entsalzen, auch auf den Dialysator bringen. Als äussere Flüssigkeit dient ihm dabei aber nicht das Wasser, sondern eine „äusserst schwache Natronlösung".[1]) Er schafft also das Kochsalz fort und tauscht dafür das viel intensiver gerinnungshemmend wirkende Natron ein. Von einer Abmessung der zur Auflösung der Substanz gerade erforderlichen Natronmenge kann natürlich nicht die Rede sein. Bedenkt man, welche geringe Natronmengen hinreichen, um in diesen Flüssigkeiten, welche nur noch einen Rest der wirksamen Gerinnungsursachen enthalten, die Gerinnung zu hindern, bedenkt man ferner, dass die äussere alkalische Flüssigkeit doch immer den Dialysatorinhalt an Volum um ein vielfaches übertrifft, so ist es sehr verständlich, dass auf diese Weise eine Globulinlösung gewonnen wird, welche nicht von selbst, sondern nur nach Thrombinzusatz gerinnt und an welcher sich dann auch die die Thrombinwirkung begünstigende Wirkung des $CaCl_2$ sehr gut demonstrieren lässt, denn sie ist wesentlich ganz identisch mit der nach meiner Methode dargestellten alkalischen Lösung der Plasmaglobuline.

Pekelharing verdünnt nach dreimaligem Centrifugieren und Abheben der Flüssigkeit einfach die untere Schicht mit Wasser, bis sich die Flocken gelöst haben und benutzt diese Lösung mit der ganzen in ihr enthaltenen Salzmasse ohne weiteres zu seinen Versuchen. Wie soll unter solchen Umständen die Gerinnung von

[1]) O. Hammarsten: Lehrbuch der phys. Chemie. 2. Aufl., p. 47.

selbst, ohne Thrombinzusatz, eintreten und wie soll unter denselben Umständen das Chlorcalcium als Helfershelfer des Thrombins sich nicht zur Geltung bringen können?

Pekelharing, der zur Darstellung der „Fibrinogenlösung" das Verfahren von Hammarsten nicht bloss auf Magnesiumsulfatplasma sondern auch auf Oxalatplasma anwandte, giebt an, dass nach dem ersten Centrifugieren die Gerinnung der Lösung noch durch $CaCl_2$ oder $CaSO_4$ bei einer Temperatur von 30—35° C. herbeigeführt werden konnte, dass dies nach dem zweiten Centrifugieren nur noch „bisweilen" und nach dem dritten gar nicht mehr gelang. Das heisst nichts anderes, als dass das Substrat der Fermententwickelung bestrebt ist zu wirken und im Kampfe mit den sich ihm in Gestalt von NaCl entgegenthürmenden Hindernissen auch, wenn Kalksalze und Wärme ihm zu Hülfe kommen, mit anfänglichem Erfolge, bis es an Masse und somit auch an Kraft so zusammengeschmolzen ist, dass es den wachsenden Schwierigkeiten gegenüber nichts mehr zu leisten vermag.

Pekelharing aber schliesst, zunächst ganz richtig: Auf das dreimal centrifugierte Fibrinogen üben die Kalksalze allein gar keine Wirkung aus, sondern nur in Verbindung mit dem Ferment; letzteres aber kann die Gerinnung auch allein herbeiführen. Folglich ist die Wirkung der Kalksalze etwas anderes als die des Ferments. Da nun aber nach dem ersten, in geringerem Grade auch nach dem zweiten Centrifugieren die Kalksalze, und zwar sie allein, die Gerinnung der direkt vom Blutplasma stammenden, also fermentfreien Flüssigkeit doch herbeiführen, so muss das Ferment hier unter der Mitwirkung der Kalksalze entstanden sein und da die letzteren ferner, wie wir gesehen haben, nach dem dritten Centrifugieren sich als ganz unwirksam erwiesen, so muss das Plasma noch einen weiteren Bestandtheil enthalten haben, welcher in Gemeinschaft mit den Kalksalzen für das Auftreten des Ferments sorgt, durch das wiederholte Waschen mit

der Kochsalzlösung auf der Centrifuge aber schliesslich ganz entfernt wird.

So allgemein gehalten kann diese Schlussfolgerung gewiss für richtig anerkannt werden und passt auch für meine Auffassung der Wirkung der zymoplastischen Substanzen und der Salze, nur dass bei mir noch etwas drittes hinzukommt, das Prothrombin als das wahre Zymogen des Thrombins. Aber da Pekelharing die Beschaffenheit seiner Versuchsflüssigkeit, der nach Hammarsten dargestellten Globulinlösung, nicht richtig beurtheilte, indem er sie für eine salzige Lösung wirklich reinen Fibrinogens und also auch für der Gerinnung aus inneren Gründen unfähig hielt, so gerieth er, von richtigen Gesichtspunkten ausgehend, doch auf Irrwege.

Er bemühte sich nun den Plasmabestandtheil aufzufinden, welcher in Gemeinschaft mit Kalksalzen Veranlassung zur Entstehung des Thrombins giebt und hat in der That auf verschiedene Weise aus Oxalat- sowie auch aus Magnesiumsulfatplasma eine Substanz dargestellt, welche „mit Hülfe eines Kalksalzes reines Fibrinogen zur Gerinnung bringt“ [1]). Diese Substanz soll nun $CaCl_2$ und $CaSO_4$ zersetzen, sich mit dem Kalk verbinden und auf diese Weise zum Thrombin werden, dessen Thätigkeit darin besteht, seinen Kalk auf die fibrinogene Substanz zu übertragen und sie dadurch in Faserstoff zu verwandeln. Er nennt diesen Plasmabestandtheil Nukleoalbumin.

Ich habe mir diese Substanz nach der dritten der von Pekelharing angegebenen Methoden dargestellt [2]) und kann bestätigen, dass sie allein für sich auf seine so ausserordentlich salzreiche Fibrinogenlösung nicht wirkt, wohl aber in Verbindung mit einem der beiden genannten Kalksalze, welche allein für sich natürlich gleichfalls wirkungslos waren. Aber nachdem ich die sog.

[1]) Pekelharing. Untersuchungen über das Fibrinferment. Amsterdam, 1892, bei J. Müller, p. 4.

[2]) Ebendas.

Fibrinogenlösung etwa $^3/_4$ Stunden lang dialysiert hatte, so bewirkte sie die Gerinnung ganz allein und zwar eine vollkommen erschöpfende und verhältnissmässig rasch zum Abschluss gelangende. Also war das Kalksalz für die Gerinnung nicht unbedingt, sondern nur unter Umständen nothwendig und folglich kann es für dieselbe auch nicht die Bedeutung haben, die ihm Pekelharing zuschreibt, ebensowenig wie dem „Nukleoalbumin" dabei die Rolle zufallen kann, die es nach ihm spielen soll. Je mehr das Kochsalz durch die Dialyse entfernt worden war, desto rascher wirkte die Substanz, zuletzt in einigen Minuten, so dass man glauben konnte es mit dem Thrombin selbst zu thun zu haben; aber, wohl zu bemerken, wenn das „Nukleoalbumin" schon so rasch wirkte, dann gerann die Flüssigkeit auch ohne dasselbe sehr bald.

Auch eine nach meiner Methode dargestellte Lösung der Plasmaglobuline, welche ich mit einem ziemlich reichlichen Ueberschuss von Kochsalz versah, wurde durch diese Substanz allein, ohne jeden Kalksalzzusatz zum Gerinnen gebracht; als ich aber den Kochsalzgehalt der Globulinlösung noch weiter erhöhte, so musste ich, um denselben Effekt zu erzielen, ein Kalksalz zu Hülfe nehmen und als ich noch mehr Kochsalz hinzuthat, so blieb die Combination beider unwirksam, aber lange noch nicht das freie Thrombin.

Pekelharing's aus Blutplasma gewonnenes Nukleoalbumin besteht aus einem Niederschlag von zymoplastischen Substanzen, verunreinigt mit Paraglobulin und, nach meinen Erfahrungen zuweilen auch mit allerdings sehr wenig fibrinogener Substanz, vielleicht auch mit anderen, für die Gerinnung nebensächlichen Plasmabestandtheilen. Ich extrahierte dieses breiartige Nukleoalbumin, nachdem ich es etwas mit Wasser gewaschen, ein paar Tage lang mit Alkohol, filtrierte, und verdampfte den Alkohol; der Rückstand stellte die bekannte gelbbraune klebrige Masse dar und wirkte mit Wasser verrieben auf die Globulinlösungen genau ebenso, wie

die ursprüngliche Substanz, d. h. genau ebenso wie eine Emulsion der aus Lymphdrüsenzellen oder aus Blutserum gewonnenen zymoplastischen Substanzen.

Ich will hier nur diejenige Darstellungsmethode des Nukleoalbumins, welche Pekelharing selbst für die einfachere erklärt und welche auch ich angewandt habe, betrachten.

Es wird Oxalatplasma, um es relativ salzarm zu machen, mit zwei Volum Wasser verdünnt, so viel Essigsäure hinzugefügt, dass die Reaktion sauer und die zunächst entstandene Fällung „zum grossen Theil" wieder gelöst wird, dann centrifugiert; die Flüssigkeit wird von dem ziemlich fest dem Boden des Glases anhaftenden Niederschlag abgegossen, der letztere in möglichst wenig Kali- oder Ammonlösung gelöst, mit viel Wasser versetzt, centrifugiert — und so noch ein drittes Mal: der Niederschlag wird schliesslich mit Wasser ausgewaschen und stellt nun das Nukleoalbumin dar.

Nun wird aber bei dieser Behandlungsart zunächst ein Theil der Globuline mit relativ viel zymoplastischen Substanzen aus dem Plasma gefällt, und dann durch den Ueberschuss der Säure wieder gelöst: zu einer vollständigen Auflösung derselben ist der Säurezusatz aber doch wieder zu klein, man soll sie ja nur zum grossen Theil damit wiederauflösen. Die Globuline ihrerseits sind indess leichter löslich in der Säure als die zymoplastischen Substanzen, folglich wird der in Lösung gebrachte grössere Theil vorzugsweise aus den ersteren und der ungelöst zurückbleibende kleinere Theil vorzugsweise aus den letzteren bestehen, und so noch zweimal. Der schliessliche Rückstand im Centrifugenglase ist denn auch immer sehr unbedeutend, aber von den zymoplastischen Substanzen bedarf es nicht viel, um auffallende Wirkungen zu erzielen.

Den Zusatz des Oxalats zum Plasma hält Pekelharing wohl für erforderlich um dessen Gerinnung zu unterdrücken; aber das ist gar nicht nöthig, weil man aus dem Blutserum, das man nur mit dem gleichen oder doppelten Volum Wasser zu verdünnen braucht, ganz dieselbe Substanz, mit ganz denselben Eigenschaften

und Wirkungen durch die obige Behandlungsart gewinnt. Sie nimmt nur etwas von dem im Serum enthaltenen freien Thrombin mit, erkennbar an ihrer Wirkung auf proplastische Transsudate; nach einmaligem Aufkochen hört das auf, aber auf Hammarsten's Fibrinogenlösung wirkt sie nach wie vor und zwar genau ebenso wie die aus dem Oxalatplasma gewonnene Substanz. In ein paar Fällen fand ich, dass das aus Blutplasma gewonnene sog. Nukleoalbumin, in frisches Rinderblutserum gebracht, ein allerdings sehr unbedeutendes Gerinnsel gab, sie muss in diesen Fällen also neben Paraglobulin noch Spuren von fibrinogener Substanz enthalten haben; doch ist dieser Umstand für die Beurtheilung der Wirkung auf die sog. reinen Fibrinogenlösungen von keinem Belange, da die letzteren viel massigere Gerinnsel geben.

Um nicht missverstanden zu werden will ich noch erwähnen, dass die aus den Lymphdrüsenzellen gewonnenen zymoplastischen Substanzen in verdünnter Essigsäure unlöslich oder doch nur zum kleineren Theil darin löslich sind; die entsprechenden im Serum enthaltenen Substanzen aber werden bei genügendem Zusatze dieser Säure ganz aufgelöst, ebenso im Plasma. Die Löslichkeitsbedingungen sind also hier besondere.

Ich kann es nun dem Leser überlassen, herauszufinden, wie auch bei den anderen Darstellungsarten Pekelharing's es immer nur die zymoplastischen Substanzen waren, welche er als die wirksamen Bestandtheile seines Nukleoalbumins in die Hände bekam. Auf den Namen käme es schliesslich nicht an, aber es wäre doch sehr sonderbar, einer Substanzgruppe, die in Alkohol löslich ist, keine einzige Eiweissreaktion giebt und überhaupt in nichts den Eiweissstoffen ähnlich ist, einen Namen zu geben, welcher das Wort Albumin enthält; ausserdem würde er nur zu leicht falsche Vorstellungen erwecken.

Das experimentum crucis aber wird mit den proplastischen Transsudaten oder einer salzigen Lösung der aus ihnen mittelst überschüssigen Kochsalzpulvers gefällten fibrinogenen Substanz

angestellt: so wenig man hier mit den zymoplastischen Substanzen irgend etwas ausrichtet, so wenig auch mit Pekelharing's Nukleoalbumin, mit oder ohne Hinzufügung von Kalksalzen; nur das Thrombin ist hier wirksam und zwar in ausgezeichneter Weise, ohne der Hülfe eines Kalksalzes zu bedürfen. Und doch müsste das Nukleoalbumin hier sogar ohne Hinzuthun von Kalksalzen, wenn Pekelharing's Idee richtig wäre, zum Ziele führen: denn die proplastischen Transsudate selbst enthalten diese Salze in hinreichender Menge, um in Pekelharing's Sinn mit dem Nukleoalbumin sich zum Ferment zu verbinden.

Das Thrombin aber bedarf wiederum dieser Salze nicht um die proplastischen Transsudate gerinnen zu machen. Man bringe in die letzteren etwa 0,2 oxalsaures Kali, was gegenüber dem Kalkgehalt der proplastischen Transsudate schon einen reichlichen Ueberschuss bedeutet, filtriere vom Calciumoxalat ab, und füge nun die Thrombinlösung hinzu; die Flüssigkeit wird gerinnen wie früher, als wenn gar nichts mit ihr geschehen wäre.

Pekelharing giebt nun aber an, dass die Thrombinlösungen selbst Kalk enthalten. Wenn man sie aus einem Serumcoagulum bereitet, das nur kurze Zeit, etwa einige Tage unter Alkohol gestanden hat, so enthält sie stets aufgelöstes Eiweiss und bei Zusatz von oxalsaurem Ammon ensteht dann auch eine sehr schwache Trübung; aber diese Kalkspuren müssen ja im entkalkten proplastischen Transsudat durch das überschüssig hier vorhandene Kaliumoxalat gleichfalls gefällt werden und doch findet die fermentative Wirkung ungehindert statt. Meine Thrombinlösungen blieben beim Oxalatzusatz, wie ich bereits betonte, vollkommen klar. Uebrigens hat die Frage des Kalkgehalts der Thrombinlösungen für Pekelharings Hypothese keine Bedeutung mehr, denn wir haben soeben gesehen, dass der Kalkzusatz das eine Mal (bei seinen „reinen" Fibrinogenlösungen) für die gerinnungserregende Wirkung seines Nukleoalbumins nicht unbedingt nothwendig war und dass das andere Mal, bei den proplastischen Trans-

sudaten, diese Wirkung selbst Null war, trotz des Kalkgehaltes der letzteren und trotz eines Kalkzusatzes, während das Thrombin ihre Gerinnung bewirkte, gleichgiltig ob Kalksalze zugegen waren oder nicht.

Wenn man aber das proplastische Transsudat verunreinigt, indem man ihm Prothrombinlösung und (was grade nicht absolut nothwendig, aber doch immer besser ist) zymoplastische Substanzen zusetzt, dann hat man eine Flüssigkeit, welche durchaus der „reinen" Fibrinogenlösung entspricht; dann sind die zymoplastischen Substanzen und das „Nukleoalbumin", die Kalksalze und das Chlornatrium wirksam, einzeln und in Combination, wie man will.

Das wahre Zymogen des Thrombins ist nicht die von Pekelharing aus dem Blutplasma mit verdünnter Essigsäure gefällte Substanz, sondern es besteht als ein selbständiger Stoff neben ihr sowohl im Plasma als im Serum, und dieses Zymogen hat nichts mit den Kalksalzen zu thun, denn es besteht, wie wir sehen werden, in beiden fort und kann auf die gewöhnliche Weise wirksam gemacht werden, nachdem sie ihres Kalkgehalts durch ein Oxalat beraubt worden sind. Pekelharing's Zymogen hat allerdings mit dem Thrombin was zu thun, aber nur als Zerspalter des wahren Zymogens.

Pekelharing erklärt zu wiederholten Malen die nach meiner Methode dargestellte Thrombinlösung für eine schwachwirkende. Das ist mir völlig unverständlich. Man kann sich natürlich Thrombinlösungen von sehr verschiedener Wirksamkeit herstellen, je nach den Wassermengen, mit welchen man das getrocknete und pulverisierte Serumcoagulum extrahiert, ebenso je nach der Thierart, von welcher das Blutserum stammt, ob z. B. vom Rinde oder vom Pferde oder Hunde, endlich je nach der augenblicklichen Beschaffenheit des zur Darstellung der Thrombinlösung benutzten Blutes. Ich habe mit meinen Thrombinlösungen ohne Schwierigkeit Gerinnungen erzeugt, wo Pekelharing's Combination seines Nukleoalbumins mit $CaCl_2$ oder mit $CaSO_4$ völlig unwirksam war.

Ich glaube wohl, dass es ihm gelungen ist mit dieser Combination schnell verlaufende Gerinnungen zu erzeugen, dann wäre aber auch ohne dieselbe die Gerinnung nach einiger Zeit eingetreten resp. er hätte mit meiner Thrombinlösung einen noch rascheren Verlauf erzielt. Ebenso glaube ich es, dass er die Thrombinlösungen, auch wenn er sie nach meinen Angaben aus Rinderserum bereitet hatte, gegenüber dem hohen Salzgehalt seiner Gerinnungsflüssigkeit mitunter recht schwach wirkend gefunden hat; dann hätte er aber mit seiner Combination noch viel weniger, vielleicht gar nichts, ausgerichtet. Es ist ja nicht zu vergessen, dass mit einer Thrombinlösung das freie Ferment in die Gerinnungsflüssigkeit gelangt, während Pekelharing's Zusätze dasselbe aus seiner indifferenten Vorstufe erst frei zu machen haben, eine Aufgabe, die, wie wir wissen, durch überschüssige Salze viel leichter unterdrückt wird, als die Wirkung des Fermentes. Man vergleiche nur, was man im verdünnten Magnesiumsulfatplasma mit einer Thrombinlösung und was mit Pekelharing's Combination erreicht.[1])

Ich wende mich jetzt zu den Versuchen von Arthus und Pagès, die ich, ebenso wie die aus ihnen gezogenen Schlüsse, wohl als bekannt voraussetzen kann.[2]) Diese Versuche haben in der That etwas sehr Ueberraschendes und ich gestehe, dass sie mich für eine Zeitlang unsicher machten, während sie, wie ersichtlich, Viele überzeugt haben. Was mich anbetrifft, so kann ich den Grund meines Irrewerdens angeben: es war die Macht gewohnter Anschauungen, welche mich veranlassten Qualitäten an

[1]) Nur die Thrombinlösungen, welche ich durch vorübergehende Erhöhung der Alkalescenz aus dialysiertem Pferde- oder Rinderblutserum darstellte, übertrafen häufig die auf dem gewöhnlichen Wege, mittelst Fällung des Blutserums mit Alkohol und Extrahieren des Coagulums mit Wasser gewonnenen an Wirksamkeit.

[2]) Maurice Arthus. Recherches sur la coagulation du sang. Thèses presentées à la Faculté de sciences de Paris 1890.

gewisse erfahrungsmässige Quantitäten mir inniger gebunden zu denken, als es in der Natur der Fall ist. Gegenüber den Anschauungen von Arthus und Pagès formuliere ich meinen abweichenden Standpunkt folgendermassen:

Es giebt Säuren, deren neutrale Alkali- und Erdverbindungen in äusserst kleinen Mengen die Faserstoffgerinnung auf dieselbe Weise und ebenso vollständig unterdrücken, wie die bisher zum Studium der Blutgerinnung benutzten Neutralsalze der Mineralsäuren, und insbesondere ihr stärkster Repräsentant, die schwefelsaure Magnesia, es nur in vergleichsweise sehr grossen Mengen zu leisten vermögen. Solche Säuren sind die Oxalsäure und die Citronensäure; es wird aber deren gewiss noch mehr geben. Mit den Fluorsalzen habe ich mich nicht befasst. Unter den Alkalisalzen der Oxalsäure habe ich, wie Arthus, mich nur mit dem neutralen oxalsauren Kali beschäftigt. Auch die Citronensäure kam nur als neutrales Kalisalz zur Verwendung. Fast alle hierher gehörigen Versuche sind mit Pferdeblutplasma angestellt worden.

Das oxalsaure Kali hebt die Gerinnung vollständig auf, schon wenn es sich zu 0,1 bis 0,2 % im Blute befindet; vom citronensauren Kali waren dazu 0,3 bis 0,5 % erforderlich. Ich vermuthe, dass es Salze giebt, die den Uebergang bilden zwischen den schon in so kleinen Mengen die Gerinnung unterdrückenden Oxalaten und Citraten zu den nur in Massen wirkenden Alkali- und Erdsalzen der Mineralsäuren.

Das citronensaure Kali unterdrückt die Gerinnung, ohne zugleich die Kalksalze zu fällen[1]), das oxalsaure Kali thut dies zwar, aber als einen für die Faserstoffbildung gleichgültigen Nebeneffekt. Nach allgemeinen chemischen Prinzipien muss es im Ueberschuss hinzugegeben werden um allen Kalk zu fällen. Dieser Ueberschuss ist es, welcher die Blut-

[1]) Ganz ebenso verhält sich auch sogar ein später zu erwähnendes Salz der Oxalsäure.

gerinnung vollständig unterdrückt. Die Kalksalze des Blutes arbeiten also insoweit sogar der gerinnungshemmenden Wirkung des Oxalats entgegen, als sie einen Theil desselben zersetzen, die Oxalsäure fällen und dadurch unschädlich machen. Fehlten die Kalksalze dem Blute, so würden noch geringere Quantitäten des Oxalats zur Unterdrückung seiner Gerinnung hinreichen.

Schafft man nach stattgehabter Kalkfällung diesen in Lösung bleibenden Ueberschuss des Kaliumoxalats aus dem Plasma fort, was auf verschiedene Weise geschehen kann, so ist das Blut resp. das Plasma, ebenso auch die künstliche Lösung der Plasmaglobuline wieder gerinnungsfähig und sie sind leicht zum Gerinnen zu bringen, ohne dass es der Hinzufügung eines Kalksalzes bedarf. Erneuert man den Oxalatzusatz so wird die Gerinnungsfähigkeit zum zweiten Male vollkommen aufgehoben, obgleich hier von einer Kalkfällung keine Rede ist, da die Kalksalze schon ausgefällt waren. Zu diesen Resultaten bin ich auf folgenden Wegen gelangt:

1. Durch Fällung der Plasmaglobuline mittelst Kohlensäure aus dem mit 20 Vol. Wasser verdünnten Oxalatplasma, ein paarmaliges Waschen des Niederschlages auf der Centrifuge, Auflösen desselben in Wasser vermittelst der grade hinreichenden Natronmenge und Hinzufügen von etwa 0,5 % NaCl. Der letztere Zusatz dient nur zur Beschleunigung der Gerinnung, da die nach der Fällung aus dem verdünnten Oxalatplasma ohne weiteres zur Herstellung der Gerinnungsflüssigkeit benutzten Plasmaglobuline noch in hinreichender Menge Salze einschliessen, um, namentlich wenn sie in wenig Wasser aufgelöst werden, auch ohne einen Salzzusatz die Gerinnung einzuleiten. Zu diesen Versuchen liess ich entweder das Pferdeblut aus der Ader in einen graduierten Cylinder, welcher 2,4 Ccm. einer 5procentigen Kaliumoxalatlösung enthielt (= 0,12 % Oxalat), bis zur Marke 100 fliessen, von welchem ich dann nach stattgehabter Senkung der rothen Blutkörperchen das Plasma abhob, oder ich mischte das Plasma von rasch gekühltem Pferdeblut

im Verhältniss von 100 : 3 mit der 5procentigen Kaliumoxalatlösung (= 0,15 % trockenes Salz). In allen Fällen blieb das Oxalatplasma, sich selbst überlassen, dauernd flüssig. Die Lösungen der auf diese Weise vom überschüssigen Oxalat gereinigten Plasmaglobuline gerannen in 1—3 Stunden.

2. Durch Eliminieren der gerinnungshemmenden Wirkung des Oxalates mittelst starker Verdünnung und Hinzufügen von NaCl bis der Gehalt der verdünnten Flüssigkeit in diesem Salz ca. 0,8 % beträgt. Bei Anwendung dieser Methode hat man aber mit denselben Schwierigkeiten zu kämpfen, die wir schon beim Magnesiumsulfatplasma kennen gelernt haben. Unter sechs Versuchen habe ich indess doch zweimal meinen Zweck erreicht; der Oxalatgehalt betrug in dem einen Falle 0,1 %, im anderen 0,15 %, verdünnt wurde mit 150 Volum einer 0,8procentigen Kochsalzlösung und ausserdem noch etwas zymoplastische Substanzen hinzugefügt. Nach zwei resp. drei Tagen hatte sich die Flüssigkeit in eine lockere Gallerte verwandelt, nachdem sie schon am ersten Tage mit Flockenbildung begonnen hatte.[1]) Beide Male hatte ich es aber mit einem sehr spaltungskräftigen Plasma zu thun, das auch an sich, trotz der Abkühlung, auffallend schnell gerann. Ich erleichterte mir aber das Verfahren in derselben Weise wie beim Magnesiumsulfatplasma, indem ich das Oxalatplasma mit 50 Volum einer 0,8 % Kochsalz enthaltenden, zu 1 Th. mit 3 Th. Wasser verdünnten Prothrombinlösung verdünnte. Zur Darstellung der Prothrombinlösung benutzte ich Rinderblutserum, welches ich mit 0,2 % oxalsaurem Kali entkalkt, dann zwei Tage lang dialysiert und schliesslich vom ausgeschiedenen Paraglobulin abfiltriert hatte. Durch einen kleinen Zusatz von zymoplastischen Substanzen kürzte

[1]) Es kam mir bei diesen Versuchen grade darauf an die Gerinnung des Oxalatplasmas durch Kochsalzzusatz herbeizuführen. Aus Gründen, die ich hier nicht zu wiederholen brauche, geht es viel leichter mit den Erdsalzen, z. B. mit $MgCl_2$, wobei man mit einer 3—8fachen Verdünnung auskommt. Ich werde auf diese, den Angaben von Arthus widersprechende Thatsache zurückkommen.

ich die Gerinnungszeit auf $2^1/_2$ Stunden ab. Lässt man in dieser Combination das Kochsalz weg, so bleibt auch die Gerinnung aus, aber es entsteht ein fein vertheilter Globulinniederschlag, erkennbar an der Leichtlöslichkeit in verdünnten Säuren, Alkalien und in Neutralsalzen. Kochsalzzusatz ruft hier jedesmal die Gerinnung hervor.

3. Das dritte und in mancher Hinsicht beste Verfahren beruht auf der Entfernung des Oxalats aus dem Plasma durch Dialysieren desselben. Durch einen Vorversuch mit einer wässerigen Kaliumoxalatlösung von 0,1 % stellte ich zunächst fest, dass dieses Salz ziemlich langsam die Membran durchdringt. Ich fand nämlich bei Einhaltung meines gewöhnlichen Verfahrens beim Dialysieren, dass die Lösung nach 8 Stunden durch $CaCl_2$ noch schwach getrübt wurde, aber selbst nach 24 Stunden waren noch Spuren des Oxalats in ihr nachweisbar.

Bei einem 0,1 procentigen Oxalatplasma genügt eine Dialyse von 6—8, bei einem 0,2 procentigen eine solche von 8—10 Stunden um das Oxalat so weit zu entfernen, dass die Gerinnung ohne dass ein Chlorcalciumzusatz erforderlich wäre wieder eingeleitet werden kann. Ein 0,3 procentiges Oxalatplasma müsste hiernach etwa 10—12 Stunden dialysiert werden; mir kam aber beide Male, dass ich diesen Versuch anstellte, die Nacht dazwischen, so dass die Dialyse etwa 20 Stunden währte; auch hier gelang es mir vollkommen die Gerinnung wieder hervorzurufen, aber ich erlitt während der Dialyse nicht unbedeutende Verluste an Globulinen.

Während der Dialyse muss der Dialysator im äusseren Wasser einigemal hin- und herbewegt werden, um die Globuline, deren Ausscheidung häufig schon nach wenigen Stunden beginnt, zu hindern sich als eine der Membran anhaftende Schicht niederzuschlagen.

Nach der festgesetzten Zeit entfernte ich das Plasma aus dem Dialysator; es war immer mehr oder weniger trübe von ausgeschiedenem Globulin und enthielt stets noch Spuren von oxalsaurem

Kali, wie die Prüfung einer filtrierten Probe mit $CaCl_2$ ergab. Dies und vor allem der Umstand, dass die natürlichen Blutsalze schon durch eine 6 stündige energische Dialyse bis auf Spuren entfernt werden, bewirkten es, dass von einer spontanen Gerinnung der dialysierten Flüssigkeiten nie das geringste bemerkbar war.

Ich ertheilte jetzt den Flüssigkeiten einen Kochsalzgehalt von 0,8 %, wobei das ausgeschiedene Globulin sich auflöste, und die Gerinnung trat ein, in wechselnden Zeiten, aber immer sehr spät, in 2—15 Stunden nach meinen Erfahrungen. Durch Zusatz von einigen Tropfen zymoplastischer Substanzen konnte ich die Gerinnungszeit natürlich sehr verkürzen. Wenn der Oxalatgehalt des Plasmas jetzt auch so gering geworden war, dass seine Wirkung vom Kochsalz überwunden werden konnte, so war er doch immer Schuld an der verlangsamten Gerinnung. Deshalb entnahm ich dem dialysierten Plasma gewöhnlich nur eine Probe, die ich mit Kochsalz prüfte, während der Rest in einem kalten Raum aufbewahrt wurde. War die Gerinnung der Probe in 4—5 Stunden nicht erfolgt, so wurde das Uebrige am folgenden Tage noch einmal für 1—2 Stunden auf den Dialysator gebracht. So erreichte ich meinen Zweck, d. h. eine schnelle Gerinnung, immer. Ich hätte ihn ebensogut und noch besser durch einen Zusatz von zymoplastischen Substanzen erreicht, allein ich wollte dies vermeiden, um dem Einwand, dass dieselben doch nicht ganz kalkfrei seien, zu entgehen, obgleich es doch wirklich unmöglich ist anzunehmen, dass diese Substanzen, von welchen nahezu 5 Gr. keinen wägbaren Kalkgehalt in der Asche aufweisen und die in Emulsionen von $1^1/_2$ bis 2 % Gehalt im ungefähren Verhältniss von 1 : 100 zum dialysierten Plasma hinzugefügt wurden, durch ihren Kalkgehalt irgend eine Wirkung ausüben könnten.

Wenn ich den dialysierten und bei Kochsalzzusatz wieder gerinnenden Flüssigkeiten nur 0,05 % oxalsaures Kali hinzufügte, so richtete das Kochsalz wiederum nichts aus, auch nicht wenn ich ihm mit zymoplastischen Substanzen zu Hülfe kam. Hier war

nun aber doch von einer Kalkfällung nicht mehr die Rede, also hinderte das lösliche Kaliumoxalat an sich die Gerinnung. In dieser zum zweiten Mal in Oxalatplasma verwandelten kalkfreien Flüssigkeit aber rief ein Zusatz von 0,1 $CaCl_2$ die Gerinnung doch wieder hervor und zwar offenbar nur dadurch, dass es das lösliche Oxalat durch Ueberführung in eine unlösliche Form unschädlich machte.

Wie das NaCl, so bringt natürlich auch das $CaCl_2$ das entkalkte und vom Ueberschuss des löslichen Oxalats befreite Plasma zum Gerinnen, aber nicht weil es dem Blute den ihm geraubten und zur Bildung des Faserstoffs als Bestandtheil seines Atomcomplexes specifisch nothwendigen Kalk wieder darbietet — eine Annahme, welche schon durch den qualitativ gleichen Effekt des NaCl ausgeschlossen wird — sondern nur vermöge seiner energischen Begünstigung der Prothrombinspaltung und seiner coagulierenden Kräfte. Es ist in diesen Hinsichten dem NaCl quantitativ überlegen, darum auch der bedeutend schnellere Verlauf der durch $CaCl_2$ wiederhervorgerufenen Gerinnung.

Auch hier bin ich mit dem $CaCl_2$-Zusatz nicht über 0,2 % hinausgegangen, weil beim Ueberschreiten dieser Grenzen Gerinnungshemmungen eintreten; auch der NaCl-Zusatz bewegte sich wie gewöhnlich zwischen 0,5—0,8 %. Da aber das $CaCl_2$ die Globuline, von welchen ein Theil sich stets während der Dialyse ausscheidet, nicht so leicht auflöst wie das NaCl, so kam ich mit gutem Erfolge dem ersteren durch einen Zusatz von 0,2—0,3 % NaCl zu Hülfe. Besser noch vermeidet man dies, indem man auf die ausgeschiedenen Globuline, deren Menge wegen der kurzen Dauer der Dialyse meist sehr unbedeutend ist, ganz verzichtet; man entfernt sie also durch Filtrieren und giebt nun dem Filtrat nur einen Gehalt von 0,2 % $CaCl_2$. Dem ausgeschiedenen Faserstoff habe ich den Defekt an Globulinsubstanz dem äusseren Ansehen nach nie anmerken können.

Das entkalkte und dialysierte Plasma ist zugleich ein vortreff-

liches Mittel um sich von der besonderen Rolle zu überzeugen, welche die zymoplastischen Substanzen einerseits und die Neutralsalze andererseits, beides zugleich natürliche Bestandtheile der Blutflüssigkeit, bei der Faserstoffgerinnung spielen. Der an sich so unbedeutende Zusatz von Kaliumoxalat beseitigt nicht blos die Kalkverbindungen des Plasmas, sondern eröffnet zugleich, weil dieses Salz viel langsamer als die löslichen die Scheidewand passiert, die Möglichkeit dem Plasma ohne dass es bei der Dialyse gerinnt die letzteren zu entziehen. Auf diese Weise erhält man, und das ist für viele Untersuchungszwecke von Wichtigkeit, eine an sich gerinnungsunfähige und doch leicht zum Gerinnen zu bringende Flüssigkeit, welche nach Concentration und Zusammensetzung mit dem natürlichen Blutplasma fast identisch ist.

Entfernt man aus solchem Plasma um es zu klären den während der Dialyse ausgeschiedenen Theil der Globuline durch Filtrieren, oder löst man ihn vorsichtig mittelst verdünnter Natronlösung auf, so erhält man eine Flüssigkeit, welche niemals die geringste Andeutung einer Gerinnung zeigt. Durch Hinzufügung von zymoplastischen Substanzen bewirkt man nicht die geringste Aenderung dieses Zustandes, was zugleich beweist, dass die in ihnen enthaltenen Kalkspuren für ihre gerinnungserregenden Eigenschaften überhaupt gar nicht in Betracht kommen. Nicht die zymoplastischen Substanzen, sondern die Neutralsalze erweisen sich hier also als unbedingt nothwendig für die Gerinnung; sie sind es ja auch, welche durch die Dialyse bis auf unwirksame Spuren entfernt worden sind. Bringt man nun aber zu der mit einem Neutralsalz versehenen Flüssigkeit noch zymoplastische Substanzen hinzu, so erfährt ihre Gerinnungstendenz eine so enorme Erhöhung, dass man, wenn es sich um eine gleichartige, also nur zu addierende Wirkung des Salzes und dieser Substanzen handelte, die letzteren für die viel wirksameren erklären müsste. Es ist aber klar, dass es sich dabei um ihrer Natur nach ganz verschiedene Wirkungen handelt.

Ich will hier einen mit Fibrinwägungen verknüpften Versuch einschalten, wobei ich die Bemerkung vorausschicke, dass man bei NaCl-Zusatz zwar am schnellsten zum Ziel gelangt, wenn er 0,7—0,8 % beträgt, dass der Faserstoff sich dabei aber oft in einer leimgallertartigen Form ausscheidet, was seine Verarbeitung zu Wägungszwecken erschwert. Beträgt dagegen der NaCl-Zusatz nur 0,5—0,6 %, so dauert es mit der Gerinnung zwar länger, aber man erhält dafür einen contraktionsfähigen, leicht vom Serum zu befreienden Faserstoff. Von den Unterschieden im Salzgehalt gerinnbarer Flüssigkeiten, sofern er dem betreffenden Optimum naheliegt, hängen zwar, wie wir später sehen werden, auch gewisse Differenzen des Faserstoffgewichts ab, aber sie sind so unbedeutend, dass sie hier nicht in Betracht kommen. Zweck dieser Versuche war zu ermitteln, ob der grosse Unterschied in der Wirkung des $CaCl_2$ und des NaCl sich nur auf die Geschwindigkeit der Gerinnung bezieht, oder ob er auch die Menge des Faserstoffs betrifft.

Von rasch gekühltem Pferdeblutplasma wurden 25 Ccm. Plasma abgenommen, gewogen und als Normalprobe bei Seite gestellt. Fernere 50 Ccm. wurden mit 0,15 % Kaliumoxalat versetzt und 7 Stunden lang dialysiert. Um nach beendeter Dialyse das wasserreicher gewordene Plasma mit dem möglichst kleinsten Verlust zurückzugewinnen, hielt ich den Dialysator über einer Porzellanschale und durchstach die nach unten gewölbte Membran in der Mitte. Ich erhielt 65 Ccm. Flüssigkeit, doch war ein kleiner Verlust dabei nicht zu vermeiden. Die Reduktion des in einer abgewogenen Menge des dialysierten Plasmas gefundenen Faserstoffprocents auf das unverdünnte Plasma war daher mit einem kleinen Fehler behaftet. Von der dialysierten Flüssigkeit wurden je 30 Ccm. abgenommen, gewogen und der einen Portion ein Gehalt von 0,5 % NaCl, der anderen von 0,2 % $CaCl_2$ und 0,2 % NaCl gegeben. Am folgenden Tage wurde der mittlerweile erschöpfend ausgeschiedene Faserstoff wie gewöhnlich verarbeitet, getrocknet und gewogen. Ich erhielt aus dem normalen Plasma 0,57 %

Faserstoff; von den beiden anderen Portionen lieferte mir die eine (mit NaCl) 0,39 und die andere (mit $CaCl_2$ und NaCl) 0,40 % Faserstoff. Trotzdem dass der während der Dialyse ausgeschiedene Globulinantheil durch die Salzzusätze in beiden Portionen wieder aufgelöst worden war, zeigen sie doch einen ziemlich bedeutenden Faserstoffdefekt, den ich darauf beziehe, dass ein Theil der Globuline, während sie sich noch im gelösten Zustand befanden, hinwegdiffundiert ist[1]).

Ein zweiter Versuch, in welchem das Plasma einen Zusatz von 0,2 % Kaliumoxalat erhalten hatte und die Dialyse 9 Stunden dauerte, im Uebrigen aber die Behandlung ganz dieselbe war wie im vorigen Versuch, ergab dasselbe Resultat, nur war der durch die Dialyse bewirkte Fibrindefekt wegen ihrer längeren Dauer hier grösser als dort. Das Fibrinprocent des normalen Plasmas war hier nämlich 0,600; die beiden Proben des dialysierten Plasmas aber ergaben 0,385 % (mit NaCl) und 0,391 % (mit $CaCl_2$ und NaCl). Der Defekt beträgt im ersten Versuch ca. 30 %, hier etwa 35 % des Faserstoffs. Auf diesen Defekt aber kommt es hier nicht an, sondern darauf, dass die Verschiedenheit der die Gerinnung auslösenden Salze, des NaCl und des $CaCl_2$, auf die Menge des Faserstoffs keinen Einfluss ausgeübt hatten.

4. Auch an den Transsudaten lässt sich, wie ein bei Gelegenheit bereits angeführter Versuch lehrt, die Unabhängigkeit der Faserstoffgerinnung von ihrem Kalkgehalt demonstrieren. Ich habe die vollkommenste Gerinnung der entkalkten Transsudate mit meinen gewöhnlichen wässerigen, aus dem Alkoholcoagulum von Rinderblut hergestellten Thrombinlösungen erzielt. In den

[1]) Ich arbeite mit einem sehr dünnen Pergamentpapier, das mir von einem befreundeten Institut vor mehreren Jahren abgetreten worden ist, über dessen Herkunft sich aber nichts mehr ermitteln lässt. Ein Stück dieses Papieres ist als Probe in jedes Exemplar der Dissertation von Kieseritzky eingeheftet worden.

meisten Fällen versetzte ich zur Sicherheit auch die Thrombinlösung mit 0,05—0,1 % $CaCl_2$. Es kommt zuweilen vor, dass das Wasser aus dem Alkoholcoagulum des Blutserums, namentlich wenn es nicht lange genug unter dem Alkohol gestanden, neben Eiweiss auch Spuren von Kalkverbindungen extrahiert. Es entstanden dann beim Zusatz des Kaliumoxalats äusserst schwache Trübungen oder auch nur kaum merkliche Opalescenzen; erstere liessen sich durch Filtrieren meist beseitigen, letztere aber nicht. Auch diejenigen wässerigen Thrombinlösungen, welche durch das Oxalat nicht die mindeste sichtbare Veränderung erlitten, erhielten in vielen Fällen doch, bevor sie zum entkalkten Transsudat hinzugefügt wurden, einen Zusatz von 0,05—0,10 % Oxalat.

In anderen Fällen stellte ich mir äusserst wirksame Fermentlösungen her, indem ich in vorher entkalktes Pferde- oder Rinderblutserum, nach zweitägiger Dialyse durch eine vorübergehende Verstärkung der Alkalescenz eine mächtige Thrombinentwickelung erregte. Auch mit diesen Fermentlösungen habe ich in kalkfreien Transsudaten Gerinnungen hervorgebracht, die in nichts hinter den bei Gegenwart ihrer Kalkverbindungen erzeugten zurückstanden.

Es ist ferner bei diesen Versuchen durchaus nicht nöthig, das entkalkte Transsudat oder die entkalkte Thrombinlösung vor Anstellung des Gerinnungsversuchs von dem Uebersehuss des löslichen Oxalats durch Dialyse zu befreien; denn in diesen Versuchen hat man es mit dem freien Thrombin zu thun, gegen dessen Wirkungen das Oxalat sehr wenig auszurichten vermag. Ich habe zu wiederholten Malen beide Bestandtheile der Gerinnungsmischungen, bevor ich sie zusammenbrachte, absichtlich mit reichlich überschüssigen Oxalatmengen versetzt; ich bin dabei bis 0,5 % gegangen und erreichte dabei doch nichts mehr als in maximo eine Verschleppung der Gerinnung um 1—1½ Stunden, verglichen mit denjenigen Gerinnungsmischungen, welche aus denselben Flüssigkeiten, ohne sie zu entkalken, hergestellt worden waren. Eine

mit einem Transsudat hergestellte Gerinnungsmischung, deren Bestandtheilen behufs der Entkalkung 0,15—0,2 % lösliches Oxalat hinzugefügt worden, gerinnt höchstens um ein paar Minuten später als die kalkhaltige Normalprobe; natürlich gilt dies nur von sehr wirksamen Thrombinlösungen. Nach dem Gesagten wird es auch verständlich sein, dass es, sofern man sich die Thrombinlösung aus Blutserum darstellen will, durchaus nicht nöthig ist, dasselbe nach dem Entkalken behufs Entfernung des überschüssigen Thrombins zu dialysiren. Man bewirke zuerst die Thrombinentwickelung im Blutserum durch vorübergehende Alkalescenzerhöhung, entkalke es dann und mische es ohne weiteres mit dem entkalkten Transsudat zusammen, und man wird ebenfalls seinen Zweck erreichen, nur langsamer als mit der aus dialysiertem entkalktem Serum hergestellten Thrombinlösung, weil, wie wir wissen, durch die Dialyse gewisse die Spaltung des Prothrombins hemmende Stoffe entfernt werden.

Mit diesen an Transsudaten ausgeführten Versuchen trete ich in entschiedenen Widerspruch zu den diese Flüssigkeiten betreffenden Angaben von M. Arthus. Auf pag. 40 seiner Abhandlung sagt er, dass die Transsudate, nachdem man ihnen Gehalt von 0,1—0,15 % Kaliumoxalat (oder überhaupt einer Alkaliverbindung der Oxalsäure oder des Fluors) ertheilt hat, nicht mehr durch Zusatz von Blutserum oder einer nach meiner Methode dargestellten Thrombinlösung zum Gerinnen gebracht werden können, ein Zusatz von $CaCl_2$ diesen Effekt aber herbeiführe. Ich bin jedoch zu diesem Ziele gelangt, ganz ohne zu einem Kalksalze greifen zu müssen, allein mit Hülfe des Thrombins; ja wir haben gesehen, dass das Ferment in diesen Versuchen, weil es frei war, so kräftig wirkte, dass die Entfernung des überschüssigen Oxalats durch Dialyse sich nicht als nothwendig erwies. Die Angaben von Arthus kann ich mir nur durch die Annahme erklären, dass er mit äusserst schwach wirkenden Thrombinlösungen gearbeitet und zugleich seine Gerinnungsproben nicht lange genug beobachtet

hat, denn einen gewissen, wenn auch geringen Widerstand leistet das lösliche Oxalat dem freien Thrombin immerhin.

Ferner sagt Arthus auf S. 67, dass das Paraglobulin und die fibrinogene Substanz, wenn sie durch Fällung aus Blutflüssigkeit gewonnen worden sind, stets Kalkverbindungen einschliessen, was ich durchaus für richtig anerkenne; wenn er aber hinzufügt, dass sie, wenn sie aus Transsudaten ausgefällt worden sind, keine Kalkverbindungen einschliessen, was ich dahin verstehe, dass die Transsudate auch gar keine Kalkverbindungen enthalten, so muss ich entschieden widersprechen, ebenso wenn er in diesen Verhältnissen, insbesondere einerseits im Kalkmangel der Transsudate und meiner reinen Fermentlösungen und andererseits im Kalkgehalt der Paraglobulinniederschläge, die Erklärung für die Fälle sieht, in welchen ein proplastisches Transsudat nach Zusatz der Fermentlösungen nicht gerann, wohl aber nach einem Paraglobulinzusatz.

Wenn Arthus auf S. 68 von dem Paraglobulin und der fibrinogenen Substanz sagt: „toutes les fois qu'elles sont preparées en partant des transsudats, elles ne renferment pas de composés calciques", so würde aus dem Wortlaut folgen, dass es überhaupt keine Transsudate giebt, welche Kalkverbindungen enthalten, denn Arthus drückt sich hier ganz allgemein aus. Das kann aber doch nicht seine Meinung sein, denn bei weitem die meisten der uns erreichbaren Transsudate gerinnen spontan, was doch nach der Theorie von Arthus selbst unmöglich wäre, wenn sie kein Kalk enthielten. Sein Ausspruch kann sich also nur auf die typisch proplastischen Transsudate, auf die Höhlenflüssigkeiten des Pferdes und auf die Hydrocelenflüssigkeiten beziehen. In den ersteren erhielt ich nun aber mit oxalsaurem Kali regelmässig einen mindestens ebenso bedeutenden Niederschlag von Calciumoxalat wie im Pferdeblutplasma, und es liegt gar kein Grund zur Annahme vor, dass die Hydrocelenflüssigkeiten in dieser Hinsicht unter sämmtlichen Transsudaten eine Ausnahme bilden sollten. Auch in der gesättigt alkalischen Lösung der aus den pro-

plastischen Transsudaten des Pferdes durch Verdünnen und Kohlensäuredurchleitung gefällten fibrinogenen Substanz habe ich, wie bei Gelegenheit eines in dieser Arbeit bereits mitgetheilten Versuchs erwähnt wurde, mittelst Kaliumoxalat einen Niederschlag von Calciumoxalat erhalten, also schliesst die Substanz bei ihrer Ausscheidung aus dem Transsudat ebenso wie aus dem Blutplasma Kalkverbindungen ein. Nicht Kalkmangel kann also die Ursache sein, weshalb die proplastischen Transsudate in manchen Fällen bei Zusatz meiner Fermentlösungen nicht gerannen; die wahre Ursache war, wie wir bald sehen werden, die relative Unwirksamkeit dieser Lösungen. —

Ich glaube durch diese sowohl an Blutplasma als an den Transsudaten ausgeführten Versuche den Beweis geliefert zu haben, dass die gerinnungshemmende Wirkung der Alkalioxalate anders gedeutet werden muss, als es von Seiten Arhus' geschehen ist. Die eben angeführten Versuche mit Transsudaten ergänze ich nun noch dahin, dass freies Thrombin auch die Gerinnung des Oxalatplasmas herbeiführt, nur dass die Gerinnungszeiten länger sind und man gut thut, das Plasma dabei zu verdünnen, am besten mit dem zwei- bis einfachen Volum Wasser. Wie könnte aber das Thrombin in entkalktem Plasma und in entkalkten Transsudaten Gerinnungen bewirken, wenn der Faserstoff eine Kalkverbindung wäre? Weniger sorgfältig hergestellte wässerige Thrombinlösungen enthalten allerdings Spuren von Kalk, die aber so gering sind, dass von einer Wirkung derselben ebensowenig die Rede sein kann wie von derjenigen des minimalen Kalkgehaltes der zymoplastischen Substanzen; sie repräsentieren, wie leicht zu constatieren ist, nicht den hundertsten Theil derjenigen Kalkmengen, welche nach Arthus' Erfahrungen, die ich bestätigen kann, erforderlich sind, um die Gerinnung eines 0,1procentigen Oxalatplasmas oder Oxalattranssudats herbeizuführen und sie kommen thatsächlich gar nicht in Betracht, weil sie durch das in den Reaktionsflüssigkeiten überschüssig vorhandene lösliche

Oxalat gleichfalls gefällt werden müssen. Ausserdem leisten ja die aus entkalktem und aus gewöhnlichem Serum gewonnenen Thrombinlösungen ganz das Gleiche.

Die gerinnungshemmende Wirkung der löslichen Oxalate beruht also nicht auf der Entkalkung der gerinnbaren Flüssigkeiten, sondern in sehr beschränktem Maasse auf einer Hemmung der Thrombinwirkung, im wesentlichen aber auf der äusserst energischen Unterdrücknng der Prothrombinspaltung im Blutplasma: deshalb lässt sich ihre Wirkung auch nicht durch die zymoplastischen Substanzen, noch durch eine vorübergehende Alkalescenzerhöhung des Plasmas ohne weiteres beseitigen. Man gewinnt mit Hülfe der Oxalate ein Plasma, welches, obgleich es entkalkt ist, sich im wesentlichen doch wie das Magnesiumsulfatplasma verhält und das deshalb auch durch dieselben Mittel wie dieses, namentlich durch Dialysieren oder starkes Verdünnen u. s. w. wieder gerinnbar gemacht werden kann.

Die verhältnissmässig geringe Widerstandskraft des Oxalats gegenüber dem freien Thrombin ist auch der Grund, weshalb man mit filtriertem Plasma kein dauernd flüssiges Oxalatplasma herstellen kann, ausser vielleicht wenn man das Salz in noch viel grösseren Quantitäten als ich es gethan, anwendet, was wieder andere Uebelstände, namentlich beim Dialysieren, mit sich bringt; selbst die Möglichkeit, durch $CaCl_2$ die Gerinnung wieder hervorzurufen, wird aus später anzugebenden Gründen durch grössere Oxalatzusätze erschwert. So klein die Fermentmengen sind, die sich beim Filtrieren des Plasmas entwickeln, so gelangen sie schliesslich, wenn auch oft erst nach 2—3 Tagen, trotz der Entkalkung durch das Oxalat, zur Wirkung. Deshalb ist es bei diesen Versuchen besser, sich an das nicht filtrierte Plasma zu halten, das man ohne weiteres vom rasch gekühlten Pferdeblut abhebt; oder man lässt das Blut aus der Ader direkt in die Oxalatlösung fliessen, wobei aber die Abmessung Schwierigkeiten macht. Indess fährt man wegen der grossen Ungleichheiten in der zymo-

plastischen Energie des Blutes auch beim nicht filtrierten Plasma mit 0,1 % Oxalat nicht ganz sicher, wenn auch die Gerinnungserscheinungen, wo sie vorkommen, immer nur sehr spät und in sehr beschränktem Umfang auftreten; der Sicherheit halber habe ich deshalb in den meisten Fällen mit 0,2 procentigem Oxalatplasma gearbeitet. Ferner habe ich fast immer die Flüssigkeiten, Plasma und Transsudate, vom Kalkniederschlage abfiltriert; denn es kam mir darauf an, die Gerinnungsanfänge zu beobachten, was namentlich im Plasma auf Schwierigkeiten stiess, da die Calciumoxalatkrystalle sich darin nur theilweise zu Boden setzen. Ein kleiner Theil dieser Krystalle aber durchdrang stets die Filtra, selbst wenn sie dreifache waren, doch wurde die Durchsichtigkeit der Filtrate dadurch nur wenig beeinträchtigt.

Die verglichen mit der schwefelsauren Magnesia unbedeutend erscheinende Wirksamkeit des Oxalats gegenüber dem freien Thrombin beruht vor allem offenbar darauf, dass dessen umwandelnde Wirkung auf die fibrinogene Substanz durch das Oxalat weniger gestört wird als durch das Magnesiasalz; theilweise aber dürfte sie eine mechanische Erklärung finden; denn es ist doch sehr wahrscheinlich, dass es für den Schlussakt, die Coagulierung des kolloidalen Faserstoffs, einen Unterschied machen muss, ob man in der betreffenden Flüssigkeit ein Salzquantum von 7—8 %, wie es bei der gewöhnlichen Bereitungsweise des Magnesiumsulfatplasmas der Fall ist, oder nur von 0,1—0,3 % auflöst. —

Mit dem Kaliumcitratplasma habe ich nur wenig gearbeitet; es kam mir hier nur darauf an, zu constatieren, dass es ausser den Oxalaten noch Salze einer anderen Säure giebt, welche gleichfalls in sehr kleinen Mengen die Faserstoffgerinnung unterdrücken und zwar ohne zugleich das Plasma zu entkalken. Wegen der Undurchsichtigkeit des gewöhnlichen Plasmas bediene man sich indess, um sich von dem letzteren zu überzeugen, des filtrierten Plasmas oder eines klaren Blutserums. Das Citrat

bewirkt nicht die geringste Trübung in ihnen und auch wenn man $CaCl_2$ hinzufügt, bleibt die Flüssigkeit klar.

Aber in Bezug auf die Intensität der gerinnungshemmenden Wirksamkeit blieb das Citrat hinter dem Oxalat zurück; mit einem Zusatz von 0,1—0,2 % Citrat erreicht man nur eine mehr oder weniger andauernde Verzögerung der Gerinnung; um sicher zu gehen, sind 0,4—0,5 % erforderlich. Es bedarf ferner nur einer Verdünnung mit dem 15—20fachen Volum einer 0,8procentigen Kochsalzlösung, um die Gerinnung in einem Zeitraum zwischen 20—30 Stunden herbeizuführen. Nie wird man auf diese Weise das Oxalatplasma zum Gerinnen bringen. Auch dem Citratplasma gegenüber bewährt sich das $CaCl_2$ als viel wirksamer als das NaCl. —

Wenn wir nun sehen, dass das Kaliumcitrat in Mengen, die an sich betrachtet erstaunlich klein erscheinen, die Gerinnung des Blutplasmas unterdrückt, obgleich es dasselbe nicht entkalkt, ferner, dass die Gerinnung des durch das Kaliumoxalat entkalkten Plasmas nach Entfernung des Ueberschusses dieses Salzes wieder herbeigeführt werden kann, ohne dass es der Zufuhr von Kalk in irgend welcher Gestalt bedarf, dass sie aber in demselben kalkfreien Plasma durch einen nochmaligen Oxalatzusatz wiederum unterdrückt wird, — ist es da nicht klar, dass der Kalkgehalt des Blutes nicht die Bedeutung hat, die ihm jetzt von vielen Seiten, — man kann beinahe sagen, von der allgemeinen Meinung, — zugeschrieben wird. Wie ist es gekommen, dass das Schlussergebniss dieser Untersuchungen, trotzdem die Wege dazu nicht schwer zu finden waren, doch nicht lautete: man kann das Blut entkalken und seine Gerinnungsfähigkeit bleibt bestehen, folglich . . . . Auch hier haben offenbar gewohnte, an Brücke's bekannte Analyse der Aschenbestandtheile angelehnte Anschauungen gewirkt. Brücke selbst ist aber nicht Schuld daran, denn er hat aus seinen Ergebnissen ganz andere, und zwar nur hypothetische

Schlüsse gezogen, die sich freilich auch als nicht richtig erwiesen haben. —

Ich habe bis jetzt mehrere Methoden besprochen, durch deren Anwendung man die Gerinnung sowohl des Oxalat- als des Citratplasmas hervorrufen kann, aber ich habe mich noch nicht mit der Art und Weise beschäftigt, wie die neutralen Erdsalze (nach Arthus nur die Salze des Ca und des Sr) denselben Effekt herbeiführen. In dieser Hinsicht will ich zuerst auf einen Widerspruch hinweisen, welcher beim Vergleich der Wirkung des mächtigsten Gerinnungserregers unter den hier angewandten Salzen, des $CaCl_2$, auf das Citratplasma einerseits und auf das Oxalatplasma andererseits in die Augen springt, ein Widerspruch, der sich aber bald löst.

Das Oxalatplasma enthalte 0,1 %, das Citratplasma 0,3—0,4 % des betreffenden Salzes und beide seien völlig gerinnungsunfähig. Man gebe nun dem Oxalatplasma einen Gehalt von 0,2 % $CaCl_2$, so wird es sehr bald, etwa in 10—30 Minuten, durch und durch geronnen sein; man thue dasselbe beim Citratplasma (ein grösserer Zusatz von $CaCl_2$ würde in Gemässheit des früher Gesagten in den meisten Fällen nur schädlich wirken), so beginnt die Gerinnung erst nach mehreren Stunden und verschleppt sich bis zum folgenden Tage, wenn nicht noch länger; selbst nach Verdünnung mit 3 Volum Wasser trat sie erst nach $3^1/_2$ Stunden ein. Man variiere den $CaCl_2$-Zusatz wie man will, der Erfolg bleibt im Wesentlichen derselbe. Den Widerstand des bedeutend stärkeren Gegners, des Oxalats, überwindet das $CaCl_2$ viel leichter als den des schwachen, des Citrats.

Ich will ein zweites Beispiel anführen. Ich habe nämlich zu Anfang dieses Abschnittes gesagt, dass nicht blos die Alkali- sondern auch die Erdsalze der Oxalsäure gerinnungshemmend wirken. Meine Erfahrungen hinsichtlich derselben betreffen aber vorzugsweise den oxalsauren Baryt. Nach der Angabe der Chemiker lösen 100 Gr. Wasser 0,5 Gr. Baryumoxalat. Wenn man also eine

Mischung von Plasma und gesättigter wässeriger Baryumoxalatlösung zu gleichen Theilen herstellt, so enthält sie 0,25% Oxalat. Der oxalsaure Baryt aber stimmt darin mit dem Kaliumnitrat überein, dass er die Kalksalze des Blutes nicht fällt. Filtriertes Plasma bleibt beim Zusatz von Baryumoxalatlösung klar, auch wenn man $CaCl_2$ hinzufügt; auch eine wässerige Lösung des letzteren wird dadurch nicht getrübt. Mit überschüssigem Magnesiumsulfat aber erhält man eine Fällung von Baryumsulfat. Ich habe gewöhnlich den frisch gefällten und gut ausgewaschenen oxalsauren Baryt in Substanz in das Plasma gebracht, geschüttelt und nach einiger Zeit filtriert. Durch die Prüfung mit $MgSO_4$ konnte ich constatieren, dass sich mindestens ebensoviel Baryumoxalat im Plasma aufgelöst hatte, wie in einer gesättigten wässerigen Lösung dieses Salzes enthalten war. Die Gerinnung des Plasmas wurde durch das Baryumoxalat, mochte es in Substanz oder in wässeriger Lösung in dasselbe gelangt sein, vollkommen unterdrückt. Hier haben wir also den Fall, dass auch ein Oxalat die Faserstoffgerinnung ohne Entkalkung des Plasmas hemmt.

Aber das Baryumoxalat ist gleichfalls als gerinnungshemmendes Mittel viel schwächer als das Kaliumoxalat, ja, wie es scheint, ist es sogar schwächer als das Kaliumcitrat; denn schon nach Verdünnung mit dem 4—16fachen Volum Kochsalzlösung von 0,8% gerannen alle Proben: die verdünntesten begannen damit am folgenden Tage und nach drei Tagen waren alle geronnen. Dennoch widerstand das Baryumoxalatplasma, ebenso wie das Kaliumcitratplasma der Wirkung des $CaCl_2$ viel länger als das Kaliumoxalatplasma.

Diese Widersprüche lösen sich sofort bei der Analyse der einzelnen Fälle; denn man findet dabei, dass die Bedingungen für die gerinnungserregende Wirkung speciell des Chlorcalciums beim Kaliumoxalatplasma viel günstiger liegen, als beim Citrat- und beim Baryumoxalatplasma.

Wenn wir oxalsaures Kali in das Blut bringen, so kann von

einer Gerinnungshemmung so lange nicht die Rede sein, als dasselbe noch Kalkverbindungen enthält, weil die Oxalsäure durch sie gefällt wird. Zur vollständigen Abscheidung des Kalks ist aber ein Ueberschuss des Fällungsmittels erforderlich und dieser wirkt nun gerinnungshemmend. Wird nun $CaCl_2$ hinzugefügt, so wird dieser Ueberschuss unter Fällung der Oxalsäure zersetzt und somit der gerinnungshemmende Stoff auf chemischem Wege beseitigt; aber die vollständige Beseitigung desselben erfordert eben auch wieder einen Ueberschuss des Fällungsmittels, des Chlorcalciums, und zwar in einem Betrage, welcher unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen (0,1 % Kaliumoxalat) dem Optimum dieses Kalksalses sich sehr nähert, es jedenfalls nicht überschreitet; das Kalksalz wirkt hier also in doppelter Weise, durch seine eigentlich chemischen Kräfte und durch seine Krystalloidkräfte, — so will ich der Kürze wegen die gerinnungserregende Wirkung der Salze bezeichnen, ohne damit irgend behaupten zu wollen, dass ihr Einfluss auf die Spaltung des Prothrombins ebenso von ihrer krystalloiden Natur abhängt, wie ihre coagulierenden Kräfte gegenüber den Kolloidsubstanzen, — und die Verhältnisse werden durch den überschüssigen Zusatz dieses Salzes geradezu auf den Kopf gestellt: statt des mächtigsten Gerinnungshemmers, des oxalsauren Kalks, befindet sich plötzlich der mächtigste Gerinnungserreger im Plasma.

Im Kaliumcitronat- und im Baryumoxalatplasma können sich die chemischen, den Gerinnungshemmer sofort zerstörenden Kräfte des Kalksalzes nicht geltend machen; die Gerinnungshemmer, Citronensäure und Oxalsäure, bleiben mit Basen verbunden unangetastet in Lösung; nur vermöge seiner Krystalloidkräfte vermag das $CaCl_2$ hier zu wirken, die freilich immer noch viel bedeutender sind als die aller anderen Salze; darum erscheint das $CaCl_2$ dem Kaliumcitronat- und dem Baryumoxalatplasma gegenüber bedeutend schwächer, als gegenüber dem Kaliumoxalatplasma.

Es ist nicht richtig, dass das durch Kaliumoxalat ungerinnbar gewordene Blut nur durch $CaCl_2$ und $SrCl_2$ wieder zum Gerinnen gebracht werden kann. Mit $BaCl_2$ geht es auch, man überlege sich aber die Lage:

Wir wollen annehmen, das Plasma enthalte wieder 0,1 % Kaliumoxalat und sei vollständig gerinnungsunfähig; jetzt komme die genau äquivalente Menge $BaCl_2$ hinzu und es verbinde sich sämmtliche Oxalsäure (was doch nicht richtig ist) mit dem Baryt, so haben wir ein Quantum oxalsauren Baryts, welches jedenfalls noch nicht 0,5 % des Plasmas ausmacht; mindestens so viel vermag aber dieses zu lösen. Der Gerinnungshemmer bleibt also im Plasma. Fortschaffen auf chemischem Wege, durch Zersetzung, lässt er sich durch $CaCl_2$ nicht, es bleibt also auch hier nichts übrig, als ihn durch die Krystalloidkräfte desselben oder anderer, weniger wirksamer Salze und gleichzeitige Verdünnung zu besiegen, und das gelingt, wie wir gesehen haben. Aber man kann ihn auf einem anderen Wege doch auch fortschaffen, wenigstens soweit, dass der Rest nicht viel mehr auszurichten vermag, nämlich nach dem chemischen Prinzip der Ausfällung einer gelösten Verbindung durch einen starken Ueberschuss einer anderen Verbindung, welche einen der beiden Bestandtheile der ersteren als Componente enthält. Dieser Fall wird hier eben grade durch einen stark überschüssigen $BaCl_2$-Zusatz verwirklicht, denn das Plasma enthält aufgelösten oxalsauren Baryt. Man fahre also mit dem $BaCl_2$-Zusatz fort, bis sich eine deutliche Opalescenz einstellt, welche bald in eine Trübung übergeht; in einem Falle bestimmte ich an einem 0,1 % Kaliumoxalat enthaltenden Plasma, dass ich mehr als 0,8 % $BaCl_2$ in das Plasma gebracht hatte, bis dieser Punkt erreicht war, ich glaube, dass in anderen Fällen noch grössere Zusätze erforderlich waren. Jetzt enthält aber das Plasma mehr $BaCl_2$ in Lösung, als mit seiner Gerinnung verträglich ist, aber für ein Mineralsalz ist diese Quantität nicht sehr gross und das Chlorbaryum ist kein Magnesiumsulfat. Man verdünne also nur

das Plasma mit Wasser und die Gerinnung wird eintreten und zwar eine ganz erschöpfende. Ich stellte mir gewöhnlich mehrere Proben von der drei- bis zur achtfachen Verdünnung ansteigend her; je nach den wechselnden Zuständen des Blutes, insbesondere je nach seiner zymoplastischen Energie, gerann bald die eine, bald die andere am frühsten, aber es gerannen immer alle.

Beim Versuch, das 0,1 procentige Kaliumoxalatplasma durch $SrCl_2$ zum Gerinnen zu bringen, bemerkte ich, dass auch von diesem Salze auffallend viel hinzugesetzt werden musste, um den Effekt zu erreichen, wenn auch nicht so viel wie vom $BaCl_2$; dabei verlief die Gerinnung viel langsamer als nach $CaCl_2$-Zusatz und wurde durch Verdünnen mit dem gleichen Volum Wasser bedeutend beschleunigt. Ich vermuthe daher, dass das Plasma auch oxalsaures Strontian auflöst, gewiss aber nicht in solcher Menge, wie oxalsauren Baryt.

Mit Chlormagnesium habe mich nur flüchtig beschäftigt; das oxalsaure Kali wird dadurch natürlich nicht zersetzt, indess gelingt es auch mit diesem Mittel, wenn man seine Krystalloidkräfte ausnutzt, die Gerinnung wieder hervorzurufen. Ich kann dafür einen Fall anführen, in welchem ich zum Oxalatplasma eine nicht weiter abgemessene, aber jedenfalls überschüssige Menge $MgCl_2$ hinzufügte und es dann mit 10—12 Theilen Wasser verdünnte. Ich vergass sehr bald die Probe und fand sie am Nachmittag des folgenden Tages geronnen. Wann die Gerinnung eingetreten war, kann ich nicht angeben.

Um der vollständigen Entkalkung ebenso wie der Herbeiführung einer vollkommenen Gerinnungsunfähigkeit des Plasmas durch den Ueberschuss des löslichen Oxalats sicher zu sein, habe ich selten wie Arthus mit 0,1 procentigem, sondern in den meisten Fällen mit 0,2 procentigem Oxalatplasma vom Pferde gearbeitet, zuweilen aber auch mit 0,3 procentigem, aber nur um zu erfahren wie weit man mit dem Oxalatzusatz gehen kann, ohne sich der Möglichkeit zu berauben die Faserstoffgerinnung wieder hervorzurufen;

und ich konnte so verfahren weil ich den Ueberschuss an löslichem Oxalat durch Verdünnen und Fällen der Globuline mittelst Kohlensäure oder am häufigsten auf mechanischem Wege, durch Dialyse, entfernte. Ob dem Plasma 0,1, 0,2, oder 0,3 % oxalsaures Kali zugesetzt worden war, war hierbei gleichgültig; nur die Dauer der Dialyse wurde durch diese Unterschiede beeinflusst, wobei es sich aber nur um ein paar Stunden mehr oder weniger handelte; auch auf den mit der Zeitdauer der Dialyse wachsenden Fibrindefekt kam es nicht an, da es für seine Grösse keinen Unterschied machte, ob die Gerinnung des dialysirten Plasmas durch $CaCl_2$ oder durch NaCl herbeigeführt wurde. Aber ob man es mit 0,1-, 0,2- oder 0,3 procentigem Oxalatplasma zu thun hat, macht einen grossen Unterschied, wenn es sich darum handelt die Gerinnung mit Ausschluss der Dialyse, durch direkten Zusatz von $CaCl_2$ wieder hervorzurufen. Schon bei einem Oxalatplasma von 0,2 %, noch mehr von 0,3 % gelingt dies nur unter Schwierigkeiten. Die zur Zersetzung des löslichen Oxalats erforderlichen $CaCl_2$-Mengen und damit auch deren nothwendige Ueberschüsse werden unter diesen Umständen so gross, dass sie die Gerinnung mehr oder weniger intensiv hemmen.[1]) In diesen Verhältnissen liegt wohl auch der Grund, der Arthus veranlasste, sich an das 0,1 procentige Oxalatplasma zu halten. Indess kann man sich auch hier immer durch passende Verdünnung mit Wasser oder durch einen Zusatz von zymoplastischen Substanzen helfen.

Auch Kalkwasser macht natürlich das Oxalatplasma gerinnen, aber es ist ein schlechtes Mittel. Es fällt zwar die Oxalsäure, aber wegen seiner starken Alkalescenz stört der kleinste Ueberschuss den Gerinnungsvorgang. Man hat nur für das grössere Uebel ein kleineres eingesetzt. Bei vorsichtigem Verfahren und

[1]) Zu dem überschüssig hinzugefügten $CaCl_2$ ist noch das durch die Zersetzung des Kaliumoxalats entstandene KCl als gerinnungshemmender Faktor hinzuzuaddieren.

bei Anwendung gewisser naheliegender Gegenmittel lassen sich aber die nachtheiligen Wirkungen des Kalkwassers sehr einschränken.

Ich glaube in diesem Kapitel meine Stellung zur Frage der Beeinflussung der Faserstoffgerinnung durch die Salze genügend begründet zu haben und ich bleibe bei meiner früheren Auffassung derselben. Der Faserstoff ist keine Kalkverbindung, sondern er ist — ich bleibe auch dabei — reinstes Eiweiss, welches aus viel complicierteren Zellenbestandtheilen durch eine Reihe von in der Zelle beginnenden und im Blutplasma sich fortsetzenden Metamorphosen allmählich herausgearbeitet worden ist; er ist nur durch mechanische Einschlüsse verunreinigt.[1]) Es ist Zeit, dass der Glaube an die alleinfaserstoffbildende Kraft der Kalksalze entweder bessere Stützen erhält oder verblasst; er hat bis jetzt schon Verwirrung genug angestiftet. Die Kalksalze leisten unter Brüdern wesentlich das Gleiche wie die übrigen Glieder der Gesellschaft; sie sind nur die stärksten und schnellsten unter ihnen und darum auch für den Experimentator, mich selbst miteingerechnet, die angenehmsten und bequemsten.

Es ist möglich, dass bei der natürlichen Blutgerinnung die Wirkung der Kalkverbindungen sich neben denjenigen der Chloride u. s. w. geltend machen, aber ich weiss keinen Beweis dafür, da es noch unbekannt ist, in welcher Art von Verbindungen das Calcium im Blute besteht. Vielleicht kann in dieser Hinsicht darauf hingewiesen werden, dass eine gesättigte alkalische Lösung der aus verdünntem Plasma gefällten Globuline, wenn sie concentriert ist und keine weitere Reinigung durch Wiederauflösen und Wiederfällen stattgefunden hat, so leicht von selbst gerinnt: denn in der Asche dieses Niederschlages findet sich stets Kalk; aber der Niederschlag schliesst zugleich auch regelmässig Chloride ein und in concentrierten Lösungen kolloidaler Stoffe kommen eben auch die geringsten Mengen von Krystalloidsubstanzen zur Wirkung.

[1]) „Zur Blutlehre“ p. 258.

Ich habe keinen Grund die thatsächliche Richtigkeit der vielen auf Grundlage der Kalktheorie gemachten Beobachtungen zu bezweifeln; meine abweichende Meinung betrifft nur ihre Deutung. Aber ich scheue vor der Aufgabe zurück meine Auffassung an dem ganzen Detail jener Beobachtungsthatsachen durchzuführen; das würde diese Arbeit zu einem dicken Buch anschwellen machen, das mich ebenso wie den Leser müde machte, weil ich immer wieder auf ein und dasselbe, nämlich auf meine Auffassung der Faserstoffgerinnung zurückkommen müsste. Ich halte es für genügend die zwischen mir und anderen Forschern herrschende Differenzen an ihrer Wurzel aufzudecken und glaube es dem Leser, der sich auf meinen Standpunkt stellt, weil er sich von der Richtigkeit meiner Grundresultate überzeugt hat, überlassen zu dürfen an der Hand der letzteren mit mehr oder weniger Aufwendung von eigener Mühe den Weg zu finden, der aus dem Dunkel der vielen Widersprüche hinausführt. —

Der Faserstoff, welchen ich aus Oxalatplasma durch Dialysieren und Zusatz von NaCl erhalten hatte, hinterliess beim Verbrennen sogar mehr Kalk als der vom filterierten Plasma stammende, obgleich ich das Oxalatplasma vom Calciumoxalatniederschlag abgehebert und dann durch ein dreifaches Filtrum filtriert hatte. Es erwies sich eben als unmöglich die Flüssigkeit von dem feinvertheilten Calciumoxalat durch Absitzenlassen und Filtrieren ganz zu befreien; der Faserstoff aber schliesst sie bei seiner Ausscheidung ein. Das Mittel des Chemikers, in solchen Fällen heiss zu filtrieren, blieb mir hier versagt. Durch anhaltendes Centrifugieren des Oxalatplasmas, Filtrieren, Dialysieren, Auflösen des ausgeschiedenen Paraglobulins mittelst verdünnter Natronlauge, nochmaliges Centrifugieren und Filtrieren versuchte ich es nun zum Ziel zu gelangen. Ich brachte es damit auch weiter als beim früheren Verfahren, aber doch nicht weiter als ich auf dem einfacheren Wege mit dem filtrierten Plasma gekommen war. Es verblieben beim Veraschen grade eben nachweisbare Spuren von phosphor-

saurem Kalk. Spuren aber sind Spuren und es ist unmöglich zu sagen, ob sie das eine Mal grösser oder kleiner sind, als das andere Mal. Dass die Kalkfällung durch die Oxalsäure die vom Faserstoff eingeschlossenen phosphorhaltigen Verbindungen des Plasmas nichts angeht, liegt auf der Hand. Ob aber der minimale Kalkgehalt der Asche auf trotz aller aufgewandten Mühe im Plasma zurückgebliebene und vom Faserstoff eingeschlossene Reste von Calciumoxalat zu beziehen ist oder darauf, dass ein Zusatz von 0,2 % Kaliumoxalat nicht hinreicht, um auch die letzten Spuren der Kalkverbindungen des Plasmas zu zersetzen, ist ganz unmöglich zu entscheiden.

Viertes Kapitel.

Ueber die Abhängigkeit der Menge des Faserstoffs von gewissen äusseren die Gerinnung beeinflussenden Einwirkungen.

Die Faserstoffmenge, die aus einer gegebenen Gerinnungsflüssigkeit gewonnen werden kann, hängt von zweierlei Bedingungen ab: 1) selbstverständlich von der Masse des fibrinliefernden Materials, 2) in mehr dynamischer Weise von gewissen den Process der Gerinnung begleitenden und beeinflussenden Umständen. Beiderlei Bedingungen können auch willkürlich variiert werden.

Dass man durch Vergrösserung oder Verringerung des Gehalts einer Gerinnungsflüssigkeit an fibrinogener Substanz auch die Faserstoffmenge in gleichem Sinne ändert, braucht nicht erst bewiesen zu werden und auf die weitere Thatsache, dass es, abgesehen vom Paraglobulin, auch compliciertere, bei ihrer Zersetzung Eiweiss liefernde Substanzen giebt, namentlich gewisse Zellenbestandtheile und deren Derivate, durch deren Hinzufügung zur Gerinnungsflüssigkeit man gleichfalls die Ausbeute an Faserstoff vergrössert, halte ich um so weniger nötig, hier einzugehen, als ich zu den bereits in meiner letzten Arbeit mitgeteilten Beispielen für dieses Verhältnis jetzt, bei Betrachtung der zweiten Gruppe von Bedingungen, noch weitere beizubringen in der Lage bin.

Was die äusseren Bedingungen anbetrifft, welche den Gerinnungsverlauf und dadurch auch die Ausnutzung des Substrates der Faserstoffbildung beeinflussen, so kommen hier zunächst die

Temperatur und der Gehalt der Flüssigkeit an zymoplastischen Substanzen in Betracht. Ich erinnere daran, dass bei einer gewissen mittleren Höhe beider die Fibrinziffer am höchsten ausfiel; gingen sie über dieses Mittel hinaus, oder blieben sie hinter ihm zurück, so war sie niedriger. Doch waren ihre Schwankungen nach oben sowohl, als nach unten sehr unbedeutend. Mit beiden Einflüssen wächst aber die Thrombinentwickelung in gleichem Sinn, so dass ihre Wirkung auf die Fibrinziffer in dem allgemeinen Satz ihre Erklärung findet, dass das Fermentationsprodukt bei wachsenden Fermentmengen anfangs zunimmt, um dann wieder abzunehmen.[1])

Ich führe nun noch zwei weitere Bedingungen an, welche die Fibrinziffer modificieren, nämlich: künstliches Defibrinieren durch Bewegen und Rühren mit einem Stäbchen, und der Salzgehalt der Flüssigkeit. Beide Einflüsse sollen hier getrennt betrachtet werden.

Künstliches Defibrinieren setzt nach meinen Erfahrungen die Fibrinziffer in den meisten Fällen herab, aber in sehr wechselndem Grade; zuweilen ist der Defekt recht auffallend, zuweilen unbedeutend; in seltneren Fällen bleibt die Fibrinziffer unverändert oder sie erfährt eine Erhöhung, die indess in meinen Versuchen unbedeutend war. In den Fällen der Faserstoffabnahme macht es den Eindruck, als würde der Prozess gewaltsam zum Abschluss geführt und als fiele der Defekt um so grösser aus, je weniger weit die zum Abschluss durch die Gerinnung drängenden vorbereitenden Akte bis zum Beginn des Defibrinierens gediehen waren. Da ich diese Versuche mit Fibrinwägungen verband, so sind sie nur mit filtriertem Plasma angestellt worden, und dass es in diesem mit den vorbereitenden Akten bald schneller, bald langsamer geht, habe ich an den grossen Unterschieden seiner Ge-

[1]) „Zur Blutlehre“ p. 33 und 34, 167 und 168, 197.

rinnungszeiten genugsam zu beobachten Gelegenheit gehabt. Aber auch das rote Blut gerinnt ja mit verschiedener Geschwindigkeit. In diesem Sinn würde es sich auch erklären, dass in einzelnen Fällen die Defekte beim künstlichen Defibrinieren besonders gross ausfielen, nachdem ich die Masse des fibrinliefernden Materials im Plasma durch Hinzufügung von Cytoglobin, Präglobulin oder Paraglobulin vergrössert hatte, also von Substanzen, welche zunächst erst zu fibringebendem Material verarbeitet werden mussten. Aber bei der Betrachtung von diesem Standpunkte aus bleibt doch die zuweilen vorkommende geringe Erhöhung der Fibrinziffer unverständlich.

Meist schied sich ein paar Stunden nach dem Defibrinieren noch etwas Faserstoff aus, der leicht zu gewinnen war und den ich stets zu dem übrigen hinzugefügt habe. Hiervon abgesehen war die Gerinnung stets vollständig abgelaufen, so dass weder durch Thrombin, noch durch zymoplastische Substanzen oder Chlorcalcium der geringste weitere Nachschub mehr erzeugt werden konnte. Die fibrinogene Substanz war also ebenso vollständig verbraucht, wie bei der ungestört verlaufenden Gerinnung der Vergleichsprobe. Wenn trotzdem die Faserstoffziffer grösser oder kleiner ausfällt, als bei der letzteren, so beweist das eben, wie ich schon früher betont habe, dass der Faserstoff nicht blos auf Kosten der fibrinogenen Substanz, sondern zugleich auf Kosten eines andersgearteten Materials im Plasma entsteht, welches je nach Umständen dazu bald mehr, bald weniger hergeben muss, und es ist wohl unzweifelhaft, dass dieses Material unter den natürlichen Gerinnungsbedingungen nur im Paraglobulin gegeben sein kann.

Wenn ich mit dem immerhin nicht ganz leicht zu beschaffenden Pferdeblutplasma, insbesondere mit dem filtrierten, arbeitete, so suchte ich es natürlicherweise nach Möglichkeit auszunutzen. Meist wurden daher mit einem und demselben Plasma Versuche angestellt, die von ganz verschiedenen Gesichtspunkten ausgingen. In den hier vorzuführenden Versuchen haben wir es mit Zweierlei zu thun,

mit der Wirkung des künstlichen Defibrinierens und mit derjenigen der Salze. Da es sich aber überall um die Vergleichung mit der Faserstoffziffer des normalen, in Ruhe geronnenen Plasmas handelt, die Versuchsergebnisse aber nach ihrer sachlichen Zusammengehörigkeit in zwei Gruppen geordnet dargelegt werden, so wird der Leser sich nicht wundern, dass mehrfach ein und dieselbe Normalziffer in beiden Gruppen vorkommt.

Wenn die Zusätze in gelöster Gestalt stattfanden, so wurde zu der Normalprobe eine gleiche Menge Wasser hinzugefügt. Am kleinsten waren sie bei den Salzen; denn da meine Salzlösungen 20 procentig waren und ich in die Plasmaproben, welche stets ein Volum von 10 Ccm. hatten, höchstens 0,5 % Salz (also 0,05 g) brachte, so betrugen diese Zusätze in maximo 0,25 Ccm. Wurden sie so klein, dass ihre Abmessung mit meiner graduierten, 1 Cm. fassenden Pipette unsicher war, so verdünnte ich die Salzlösung, je nach Bedürfnis, mit dem gleichen oder doppelten Volum Wasser. Eine bedeutendere Volumzunahme des Plasmas wurde durch die Zusätze von Cytoglobin-, Prä- und Paraglobulinlösungen bewirkt. Vom Cytoglobin kamen 5 procentige Lösungen der lufttrockenen Substanz (welche ungefähr 10 % Wasser enthält) in Anwendung, indem zu 10 Ccm. Plasma 3 Ccm. dieser Lösung hinzugefügt wurde. Hierdurch wurde, da das absolut trockene Cytoglobin bei der Zersetzung durch Erhitzen etwa 35 % Eiweiss liefert, der Eiweissgehalt des Plasmas (wohl richtiger gesagt, der Globulingehalt desselben) um ca. 0,47 % erhöht. Das Präglobulin wurde durch Fallung der abgemessenen und dann stark verdünnten 5 procentigen Cytoglobinlösung mit verdünnter Essigsäure, Filtrieren, Auswaschen, Abschaben vom Filtrum und Auflösen in Wasser mit Hülfe von verdünnter Natronlösung gewonnen. Hierbei wurde, weil man beim Abschaben vom Filtrum kleine Verluste erleidet, die zur Auflösung des Präglobulins dienende Wassermenge so abgemessen, dass $3^1/_2$ Ccm. der ursprünglichen Cytoglobinlösung 3 Ccm. der Präglobulinlösung entsprachen. Der Gehalt der gesättigt alkalischen

Paraglobulinlösungen wurde nicht weiter bestimmt, sondern nur dafür gesorgt, dass sie sehr concentriert waren. Präglobulin und Paraglobulin wurden mitunter auch als feuchte, vom Filtrum abgeschabte Masse in das Plasma gebracht und mit Hülfe von verdünnter Natronlösung unter Bemengen und leichtem Schütteln der Flüssigkeit aufgelöst. Mit dem Natronzusatz braucht man hier nicht so ängstlich zu sein, wie beim reinen Plasma. Natronmengen, welche hinreichen die Gerinnung des letzteren ganz zu hindern, schaden hier gar nichts; ein genügender Zusatz von zymoplastischen Substanzen bewirkt sogar, dass die Gerinnung trotz des Natrons schneller erfolgt, als im Vergleichsplasma. Das Natron wird hier offenbar durch eine Art Verbindung mit dem Prä- resp. Paraglobulin für die Gerinnung unschädlich gemacht. Uebrigens erhielten aus leicht ersichtlichen Gründen sämmtliche den Plasmaproben zugesetzte Lösungen dieser Substanzen einen Gehalt von 0,8 % NaCl; resp. die Auflösung des Paraglobulins wurde mitunter nur durch diesen Zusatz ohne vorhergehende Anwendung von NaCl bewirkt.

Ich will nun die Resultate einiger Versuche anführen, welche die Wirkung des künstlichen Defibrinierens auf normales Plasma und auf solches, dem ich Cytoglobin, Prä- oder Paraglobulin hinzugefügt hatte, illustrieren. Da das künstliche Defibrinieren des aus der Eiseskälte kommenden filtrierten Plasmas bei Zimmertemperatur oft ein unsäglich langweiliges Geschäft wird, so tauchte ich das Gläschen, indem ich mit dem Defibrinieren fortfuhr, von Zeit zu Zeit vorübergehend in Wasser von 45°, wobei die Temperatur des Plasmas bisweilen wohl über diejenige des Zimmers gestiegen sein mag. Natürlich wurde in derselben Weise auch mit der Normalprobe verfahren. Ferner machte ich zu allen Proben schliesslich einen Zusatz von einigen Tropfen einer dünnen Emulsion von zymoplastischen Substanzen. Für die mit Cytoglobin oder mit Präglobulin versehenen Präparate war dieser Zusatz unbedingt notwendig, weil jene Stoffe ja an und für sich gerinnungshemmend

wirken; bei den mit Paraglobulin versetzten Proben, ebenso bei den Normalproben, geschah dies teils um Gleichheit der Bedingungen herzustellen, teils ebenfalls im Interesse der Abkürzung der Gerinnungszeit. Endlich wurde auch dafür gesorgt, dass die Zusätze von Cytoglobin, Prä- und Paraglobulin in je zwei zu einander gehörigen und mit einander zu vergleichenden Proben, der sich selbst überlassenen und der künstlich defibrinierten einander durchaus gleich waren. In der folgenden Versuchsreihe bedeuten die Zahlen Fibrinprocente.

Versuch 1.

Das Plasma sich selbst überlassen:	Das Plasma künstlich defibriniert:
Normalprobe 0,762	0,766
Mit Cytoglobin 1,078	0,852

Ich habe absichtlich den Versuch, in welchem trotz des künstlichen Defibrinierens die Fibrinziffer sich gleich blieb, an die Spitze gestellt.

Versuch 2.

In diesem Versuch waren die Zusätze etwa um die Hälfte kleiner, als in allen übrigen.

Sich selbst überlassen:	Künstlich defibriniert:
Normalprobe 0,490	0,450
Mit Paraglobulinbrei 0,524	0,484
Mit Präglobulinbrei 0,618	0,618

Versuch 3.

Sich selbst überlassen:	Künstlich defibriniert:
Normalprobe fehlt —	—
Mit Paraglobulinlösung 0,600	0,520

Versuch 4.

Sich selbst überlassen:	Künstlich defibriniert:
Normalprobe 0,447	0,405
Mit Paraglobulinlösung 0,813	0,522

Versuch 5.

Sich selbst überlassen:	Künstlich defibriniert:
Normalprobe 0,564	0,504
Mit Präglobulinlösung 1,142	1,046

In diesem Versuch ist der Fibrinzuwachs zu gross für den Eiweissgehalt des zugesetzten Präglobulins, und da sich dieses Verhältnis sowohl bei den in Ruhe geronnenen, als bei den künstlich defibrinierten Proben zeigt, so ist ein Fehler der Fibrinwägungen wohl nicht anzunehmen. Wohl aber mag die Cytoglobinlösung, von welcher ja ohnedies mehr zur Darstellung des Präglobulins verbraucht wurde, als theoretisch erforderlich war, diesmal concentrierter geraten sein, als beabsichtigt wurde.

Versuch 6.

Sich selbst überlassen:	Künstlich defibriniert:
Normalprobe 0,764	0,576
Mit Präglobulinlösung 1,040	0,704

Ich führe nun noch ein paar Versuche an, in welchen die Fibrinziffer beim künstlichen Defibrinieren eine Erhöhung erfuhr. In zweien unter denselben sind die Differenzen sehr klein, so dass es sich auf der Wage nur um Milligramme handelte, aber andrerseits sind die Wägungsergebnisse bei dem aus filtriertem Plasma stammenden Faserstoff so genau, dass an ihrer Richtigkeit auch in diesen Fällen nicht zu zweifeln ist. Eine Erhöhung der Fibrinziffer durch künstliches Defibrinieren ist mir übrigens nur bei normalem Plasma vorgekommen, niemals bei solchem, welches mit einem Zusatz von Cytoglobin, Präglobulin oder Paraglobulin versehen worden war.

	Normales Plasma, sich selbst überlassen:	Normales Plasma, künstlich defibriniert:
Versuch 7,	0,750	0,766
Versuch 8,	0,446	0,462
Versuch 9,	0,408	0,476

Ich habe schon angegeben, dass der Plasmafaserstoff nach grösseren Zusätzen von Cytoglobin, Präglobulin und Paraglobulin eine leimgallertartige Beschaffenheit annimmt; dieselbe Beschaffenheit zeigt er, wenn dem Plasma grössere Quantitäten von zymoplastischen Substanzen hinzugefügt worden sind, ebenso nach Zusatz von NaCl sowohl als $CaCl_2$, wenn er das Optimum derselben überschreitet. Wer nun der Mühe der Reinigung des leimgallertartigen Faserstoffs zum Zwecke des Trocknens und Wägens entgehen will, der defibriniere alle seine Plasmaproben künstlich; er erhält dabei durchweg kleinere Zahlen, aber ihre relativen Differenzen bleiben dieselben. Wenigstens gilt dies für diejenigen Versuche, in welchen es sich um die Ermittelung der Wirkung des Cytoglobins, Präglobulins, Paraglobulins und der zymoplastischen Substanzen auf das Fibringewicht handelt. Ob dieses Verfahren auch für die mit den Salzzusätzen versehenen Plasmaproben zu empfehlen ist, habe ich nicht erprobt.

Ich wende mich nun zur Frage der Beeinflussung der Faserstoffmenge durch die Salze, von welchen ich in dieser Hinsicht wiederum nur das NaCl und das $CaCl_2$ geprüft habe. Ich habe schon damals, als ich fand, dass kleine Salzmengen notwendige Faktoren bei der Faserstoffgerinnung darstellen auch durch Versuche mit Kochsalz bewiesen, dass sie zugleich auch die Faserstoffziffer erhöhen können, habe aber zugleich diesen Effekt von demjenigen, welchen das Paraglobulin auf sie ausübt, als ganz anderen Wesens streng geschieden. Dass auch das $CaCl_2$ wie das NaCl unter Umständen eine Vermehrung des Faserstoffs bewirken kann, habe ich nie bezweifelt; es fragt sich nur, ob seine Wirkung, wie gegenwärtig von Einzelnen angenommen wird, wesensgleich ist mit derjenigen des Paraglobulins oder, wie ich meine, mit derjenigen des NaCl.

Die Resultate meiner Versuche waren mit Bezug auf das Fibrinprocent für beide Salze ganz gleich und stimmten auch der

Hauptsache nach mit den durch künstliches Defibrinieren bewirkten Veränderungen der Fibrinziffer überein, d. h. dieselbe erfuhr infolge der Salzzusätze zum Plasma bald eine Erhöhung, bald eine Herabsetzung und ihre Schwankungen bewegten sich zugleich immer in engen Grenzen. Dabei war leicht zu konstatieren, dass die fibrinogene Substanz jedesmal ganz verbraucht war, es sei denn, dass der Salzzusatz so gross war, dass er geradezu einen gewissen Grad von Gerinnungshemmung bewirkte, was auch leicht festzustellen war. Ferner zeigte sich, dass für die Wirkung der Salze nach der einen oder anderen Richtung vor allen Dingen die innere Beschaffenheit des Plasmas massgebend war; dasselbe Salzquantum, welches in dem einen Plasma die Fibrinziffer erhöhte, setzte sie in einem anderen herab, gerade wie wir es bei der Frage der Beeinflussung der Gerinnungsgeschwindigkeit durch die Salze gefunden haben. Nur lässt sich in beiderlei Hinsicht doch wieder kein Parallelismus beobachten. Die durch den Salzzusatz bewirkte Abkürzung der Gerinnungszeit ist keineswegs immer mit vermehrter Faserstoffproduktion verbunden: im Gegenteil das Umgekehrte scheint häufiger der Fall zu sein. Nach meinen Erfahrungen zu urteilen, bewirkt z. B. ein Zusatz von 0,2 % $CaCl_2$ in der Mehrzahl der Fälle eine stärkere Beschleunigung der Gerinnung als 0,1 %; sieht man sich aber die nachfolgenden Versuchsdaten an, deren Anzahl freilich nicht gross genug ist, um in dieser Hinsicht sichere Schlüsse zu ziehen, so findet man, dass mit der letzteren Zahl häufiger eine stärkere Fibrinvermehrung verknüpft ist, als mit der ersteren, welche sogar in den meisten Fällen mit einer Fibrinverminderung Hand in Hand geht; es scheint eben alles, was die Gerinnung stark beschleunigt, zugleich die Tendenz zu haben, die Masse des Gerinnungsprodukts zu vermindern. In Hinsicht auf die Beschleunigung der Gerinnung war aber das $CaCl_2$, wie schon aus bisher erwähnten Beobachtungen hervorgeht, durchweg wirksamer als das NaCl.

Ich habe diese Verhältnisse bei den Versuchen, über welche

ich jetzt berichte, nicht genauer verfolgt, sondern sie nur gelegentlich bemerkt, weshalb in der nachfolgenden Zusammenstellung meiner Versuchsresultate auch nur die Zahlen für die Fibrinprocente, ohne Angabe der zugehörigen Gerinnungszeiten, enthalten sind.

Versuch 1.

Normalprobe	0,408
Mit 0,05 % $CaCl_2$	0,444
Mit 0,10 % $CaCl_2$	0,490
Mit 0,20 % $CaCl_2$	0,391

Versuch 2.

Normalprobe	0,782
Mit 0,1 % $CaCl_2$	0,772
Mit 0,2 % $CaCl_2$	0,752

Versuch 3.

Normalprobe	0,600
Mit 0,1 % $CaCl_2$	0,520

Versuch 4.

Normalprobe	0,700
Mit 0,1 % $CaCl_2$	0,736

Versuch 5.

Normalprobe	0,560	
Mit 0,1 % $CaCl_2$	0,558	
Mit 0,2 % $CaCl_2$	0,570	(beginnende Gerinnungshemmung; nach Verdünnung mit Wasser schied sich noch etwas Faserstoff aus),
Mit 0,3 % $CaCl_2$	0,316	(stärkere Gerinnungshemmung, auf dieselbe Weise zu erkennen),
Mit 0,4 % $CaCl_2$		gerann gar nicht.

Versuch 6.

Normalprobe	0,534
Mit 0,1 % $CaCl_2$	0,584
Mit 0,3 % $CaCl_2$	0,570
Mit 0,5 % NaCl	0,610

In diesem Versuch gerannen die dritte und vierte Probe um mehrere Stunden später als die erste und zweite und der Faserstoff in beiden zeigte eine leimgallertartige Beschaffenheit.

Versuch 7.

Normalprobe	0,654
Mit 0,1 $CaCl_2$	0,668

Versuch 8.

Normalprobe	0,603
Mit 0,1 $CaCl_2$	0,642.

Ich habe zu diesen Zahlen mit Rücksicht auf die Wirkung des $CaCl_2$ nichts hinzuzufügen. Mit NaCl habe ich nur einen Versuch angestellt (Versuch 6), in welchem dasselbe eine Erhöhung des Fibrinprocents bewirkt hat, womit keineswegs ausgeschlossen ist, dass in einem anderen Falle derselbe relative NaCl-Zusatz in entgegengesetztem Sinne wirkt.

Weitere Versuche mit Kochsalz anzustellen, halte ich für überflüssig, da ich in dieser Hinsicht auf eine schon vor längerer Zeit veröffentlichte Untersuchung hinzuweisen in der Lage bin.[1]) Ein Theil der betreffenden Versuche ist mit Liquor pericadii vom Pferde angestellt worden und da ich den Beweis, dass das Fibrinprocent der proplastischen Transsudate durch einen Paraglobulinzusatz ganz ausserordentlich erhöht werden kann, schon in einer noch früheren Untersuchung veröffentlicht hatte, so kam es mir in der jetzt angezogenen späteren Arbeit darauf an, mit dieser Wirkung des Para-

[1]) Ueber die Beziehung des Kochsalzes zu einigen thierischen Fermentationsprocessen. Pfl. Arch. Bd. XIII p. 109—115.

globulins diejenige des Kochsalzes resp. einer Combination von Kochsalz und Paraglobulin zu vergleichen. Jede Probe des proplastischen Transsudats erhielt natürlich einen Thrombinzusatz und ausserdem wurde noch eine geringe Menge einer nach meinen damaligen Angaben bereiteten wässerigen Pferdehämoglobinlösung behufs Beschleunigung der Gerinnung hinzugefügt; wir wissen jetzt, dass das Wirksame in diesem Zusatz in den den Lösungen des Pferdehämoglobins stets beigemengten zymoplastischen Substanzen bestand.

Es ergab sich bei diesen Versuchen, dass bei gleichbleibendem Paraglobulinzusatz der Zuwachs an Faserstoff bei einem gleichzeitigen Kochsalzzusatz höher ausfiel, als ohne denselben. Ueberschreitet aber der Kochsalzzusatz eine gewisse Grenze, so beginnt die Faserstoffziffer trotz des Paraglobulinzusatzes wieder abzunehmen und das Ende muss natürlich vollständige Unterdrückung der Gerinnung sein. Durch einen unterhalb dieser Grenze sich bewegenden Kochsalzzusatz wird also die Ausnutzung des Paraglobulins zum Zwecke der Faserstoffbildung entsprechend seiner Grösse begünstigt.

Ein in diesem Sinne sehr deutliches Resultat gaben die Versuche mit filtriertem Pferdeblutplasma, von welchem ich den Versuch IV (Pfl. Arch. Bd. XIII, p. 112) hier anziehen will.

Von drei Proben filtrierten Pferdeblutplasmas zu je 10 Ccmm. blieb die erste ohne Kochsalzzusatz, die zweite erhielt einen solchen von 0,5 % und die dritte von 1,0 %. In weiteren 30 Ccmm. desselben filtrierten Plasmas wurde zunächst eine nicht gemessene, aber beträchtliche Menge feuchten Paraglobulinbreies aufgelöst, dann die Flüssigkeit zu je 10 Ccmm in drei Gläschen verteilt und nun wiederum die eine ohne Kochsalzzusatz gelassen, der zweiten ein solcher von 0,5 % und dritten von 1,0 % erteilt. So entstanden zwei Reihen von Plasmaproben (in der hier angehängten Tabelle mit a und b bezeichnet), von welchen die erste nur ihren natürlichen Paraglobulingehalt besass, während er in der zweiten Reihe künstlich erhöht worden war; innerhalb jeder einzelnen dieser

beiden Reihen war aber der Paraglobulingehalt durchweg derselbe. Der Kochsalzgehalt beider Reihen war ein um gleiche absolute Werte zunehmender, so dass je zwei correspondierende Proben derselben den gleichen Kochsalzgehalt besassen. Jede Probe erhielt ausserdem einen Zusatz von 2 Ccmm. nicht krystallisierter wässeriger Pferdehämoglobinlösung. Die Tabelle stellt diese Versuche in einer etwas anderen, aber, wie ich glaube, übersichtlicheren Weise zusammen, als es in der citierten Arbeit selbst geschehen ist.

Nummer der corresp. Probenpaare.	Grösse des procent. NaCl-Zusatzes.	Fibrinprocente.	
		a Beim natürlichen Paraglobulingehalt.	b Nach Paraglobulinzusatz.
I	0,0	0,369	0,579
II	0,5	0,510	0,730
III	1,0	0,486	0,497

Betrachtet man jede der beiden Reihen a und b einzeln für sich, so sieht man, wie bei gleichem Paraglobulingehalt durch einen zunehmenden Kochsalzzusatz das Faserstoffgewicht erhöht wird, um dann wieder abzunehmen. Die Vergleichung der Proben I a und I b zeigt die Zunahme des Faserstoffs, welche durch einen Paraglobulinzusatz allein erzielt wurde. Da aber auch die Proben der Reihe b durchweg den gleichen Paraglobulingehalt besitzen, so ersieht man aus den Fibrinziffern dieser Reihe, wie durch einen stetig steigenden Kochsalzzusatz die fibrinvermehrende Wirkung des Paraglobulins anfangs gesteigert und dann wieder herabgedrückt wird. Die höchste Fibrinziffer findet man demnach in II b (= 0,730 %). Sie ist um 98 % höher als die Normalziffer in I a (= 0,369 %).

Ob das $CaCl_2$ in passender Menge zugesetzt, in derselben Weise,

wie in den vorstehenden Versuchen das NaCl, die Beziehung zwischen dem Paraglobulin und dem Faserstoffgewicht beeinflusst, weiss ich nicht, halte es aber für wahrscheinlich.

Das dem filtrierten Plasma in diesen Versuchen zugesetzte Paraglobulin hatte sich, wie mir noch deutlich erinnerlich ist, darin vollständig aufgelöst; es gelangte also mit dem Kochsalz ein gewisser Ueberschuss an paraglobulinlösenden Mitteln in das Plasma. Es scheint, dass hierauf der die Fibrinziffer betreffende eminente Erfolg in der Reihe b beruht, mit anderen Worten, dass ein gewisser Ueberschuss an globulinlösenden Mitteln die fibrinvermehrende Wirkung des Paraglobulins begünstigt. Ich spreche diese Vermutung aus, weil ich mit dem Na O gelegentlich, wenn auch nicht bei Benutzung von Paraglobulin, so doch von Präglobulin die gleichen Erfahrungen gemacht habe; ich beobachtete nämlich, dass die durch einen Präglobulinzusatz bewirkte Vergrösserung des Fibrinprocents, wenn ich die Auflösung der Substanz durch die grade zureichende Natronmenge bewirkt hatte, geringer war, als nach Zusatz einer etwas überschüssigen Menge des Alkalis. Bei reichlicherer Anwendung von Präglobulin schien mir dieses Verhältnis deutlicher hervorzutreten. Doch muss hier besondere Vorsicht walten, da das Natron durch ein Zuviel viel schädlicher auf die Fibrinziffer wirkt als das Kochsalz.

Unter den zu den so eben erwähnten Versuchen benutzten proplastischen Transsudaten gab es auch zwei (Pericardiumflüssigkeiten vom Pferde, Versuch I und III), welche nach Zusatz meiner globulinfreien, aber auch sehr unkräftigen Fermentlösung nicht gerannen. Ganz dieselbe Erfahrung hatte ich schon früher an vielen Hydroceleflüssigkeiten gemacht. Die Gerinnungen traten aber ein, wenn ich ausser dem Fermentzusatz auch noch Paraglobulin in dem Transsudat auflöste, ebenso, auch ohne Paraglobulinzusatz, wenn ich statt der schwachen eine kräftig wirkende Thrombinlösung, welche aber zugleich auch immer etwas Paraglobulin beigemengt enthält, benutzte; eine solche kräftige, aber

zugleich paraglobulinhaltige Fermentlösung erhielt ich, indem ich ein Serumcoagulum (vom Rinde), welches kürzere Zeit, etwa $1^1/_2$ bis 3 Wochen unter Alkohol gelegen hatte, nach dem Trocknen und Pulverisieren mit Wasser extrahierte; dabei zeigte sich ferner, dass die Menge des ausgeschiedenen Faserstoffs um so grösser war, je mehr Paraglobulin in den Transsudatproben aufgelöst worden war, und dass deshalb selbst die kräftigst wirkenden Thrombinlösungen, weil sie doch immer sehr paraglobulinarm sind, viel weniger Faserstoff erzeugten, als ich durch meine Paraglobulinzusätze, mit welchen ich jedenfalls beträchtlich mehr von der Substanz in die Transsudatproben brachte, als in den wirksamen Fermentlösungen enthalten war, erzielte.

Da ich mir nun damals dachte, dass auch die schwächste Fermentlösung, wenn alles andere zur Gerinnung notwendige vorhanden ist, doch mit der Zeit wirken müsste, ohne die vielleicht auch hier in Betracht kommende Thatsache, dass die Beobachtungszeit bei diesen Versuchen eine beschränkte ist, im Auge zu behalten, so schloss ich aus den obigen Versuchsergebnissen, dass ohne das Paraglobulin überhaupt keine Faserstoffgerinnung zu Stande kommen könne, und dass die in einzelnen Fällen beobachtete Unwirksamkeit meiner paraglobulinfreien Fermentlösungen durch einen vollständigen Paraglobulinmangel in den betreffenden Transsudaten bedingt sei, während ich den letzteren in denjenigen, die Mehrzahl bildenden Fällen, in welchen dieselben Fermentlösungen eine Fibrinausscheidung herbeiführten, einen Gehalt an Paraglobulin zuerkannte, der aber meiner Meinung nach nur gering sein konnte, da die unter diesen Umständen ausgeschiedenen Fibrinmengen immer sehr unbedeutend waren.

Indem ich mit der Zeit zu neuen Gesichtspunkten für die Beurteilung der Herkunft des Paraglobulins und seiner Bedeutung für die Faserstoffgerinnung gelangt bin, erkläre ich mir den bei den typisch proplastischen Transsudaten beobachteten negativen Erfolg des Thrombinzusatzes anders, nämlich als nicht sowohl

durch einen Paraglobulinmangel, als vielmehr durch die relative Unwirksamkeit der zu diesem Versuche benutzten Thrombinlösungen und zugleich durch gewisse in den proplastischen Transsudaten enthaltene gerinnungshemmend wirkende Ursachen bedingt. Ich will mich in dieser Hinsicht nicht darauf berufen, dass die Gerinnung der Transsudate bei Anwendung concentrierterer Thrombinlösungen niemals ausblieb, weil solche Lösungen eben stets mit etwas Paraglobulin verunreinigt sind, aber ich lege Gewicht auf die Thatsache, dass die Gerinnung auch bei Anwendung meiner paraglobulinfreien schwachen Fermentlösungen niemals ausbleibt, sobald man dieselben nicht auf das Transsudat selbst einwirken lässt, sondern auf eine wässerig-salzige Lösung des in demselben enthaltenen Globulins, welche man durch Uebersättigung des Transsudats mit Kochsalz, Filtrieren und Auflösen des mit Kochsalz durchtränkten Filterrückstandes in Wasser gewinnt. Diese Beobachtung lässt an der Anwesenheit gerinnungshemmender Stoffe in den Transsudaten nicht zweifeln und alle meine Erfahrungen sprechen dafür, dass auch das Blutplasma solche Stoffe enthält. Ein natürliches Gerinnungshindernis liegt schon in der alkalischen Reaktion dieser Flüssigkeiten, aber sie ist gewiss nicht die einzige.

Auch Hammarsten giebt an, dass er aus Hydroceleflüssigkeiten, welche nach Zusatz meiner schwach wirkenden Thrombinlösung nicht gerannen, durch Fällen mit Kochsalz ein Fibrinogen isoliert habe, dessen Lösung mit denselben Fermentlösungen gerann, und mit seiner Folgerung, dass die Transsudate gewisse gerinnungshemmende Bestandtheile enthalten müssen, bin ich also durchaus einverstanden[1]). Aber auch die betreffenden Transsudate selbst hat Hammarsten unter der Einwirkung seiner Lösungen von Magnesiumsulfatferment, die sehr wirksam und zugleich durchaus para-

[1]) Pfl. Arch. Bd. XIX, p. 603.

globulinfrei sein sollen, gerinnen sehen, eine Beobachtung, die ich nicht bezweifle.[1])

Mit Hydroceleflüssigkeiten habe ich seit dem Jahre 1876 nicht mehr gearbeitet, weil die Höhlenflüssigkeiten vom Pferde am hiesigen Ort viel leichter zu beschaffen sind. Dass aber das Ebengesagte für diese Flüssigkeiten ebensogut Geltung hat, wie für die vom Pferde stammenden Transsudate, dafür bürgen die so eben angezogenen Versuche von Hammarsten.

Aber indem ich jetzt betone, dass das Ausbleiben der Gerinnung gewisser Transsudate nach Zusatz meiner Fermentlösungen durch deren relative Unwirksamkeit und nicht durch einen Paraglobulinmangel bedingt sei, ist in Bezug auf die Frage, ob die proplastischen Transsudate Paraglobulin enthalten oder nicht, gar nichts präjudiciert; denn eine Flüssigkeit mag neben der fibrinogenen Substanz viel oder wenig Paraglobulin enthalten, so lange ihr das specifische Ferment fehlt, so lange kann von ihrer Gerinnung überhaupt nicht die Rede sein. Ebenso bleibt die Thatsache, dass in allen denjenigen Fällen, in welchen die aus den proplastischen Transsudaten hergestellten Gerinnungsmischungen unzweifelhaft Paraglobulin enthielten, d. h., in welchen es von aussen in sie hereingebracht wurde, die Faserstoffmenge eine beträchtliche Erhöhung erfuhr, unangetastet bestehen.

Hieraus folgt, dass, wenn in meinen vergleichenden Versuchen nicht die mit meinen relativ unwirksamen Fermentlösungen versetzten Transsudatproben gerannen, sondern nur diejenigen, welchen ausserdem Paraglobulin hinzugefügt worden war, dieser Erfolg nur den vom letzteren eingeschlossenen beträchtlichen Thrombinmengen zu danken war; der Zusatz der Thrombinlösung zu den mit Paraglobulin versehenen Proben war hier eigentlich überflüssig; er fand nur statt, weil es sich um vergleichende Versuche handelte und man in solchem Falle sich doch immer verpflichtet fühlt, für

[1]) Ebendas. Bd. XVIII, p. 89, 90.

möglichste Gleichheit aller Bedingungen zu sorgen. In der früheren mit proplastischen Transsudaten, die in ihren Eigenschaften ganz mit den eben erwähnten übereinstimmten, angestellten Versuchreihe, in welcher es mir nur darauf ankam, zu constatieren, dass die Fibrinziffer mit dem Gehalt der Transsudatproben an Paraglobulin wächst, habe ich denselben deshalb auch nur wachsende Mengen dieser Substanz und gar keine Thrombinlösung zugesetzt.[1]) Ebenso und mit dem gleichen Erfolge verfuhr ich in ein paar späteren Versuchen.[2]) Eines an die letzteren sich anschliessenden Versuchs muss ich hier noch, um Missverständnissen vorzubeugen, Erwähnung thun. Es kam mir nämlich darauf an, zu ermitteln, ob auch durch ein ganz thrombinfreies Paraglobulin, wenn sich solches beschaffen liesse, eine Vergrösserung der Faserstoffziffer bewirkt würde. Aus dem Eiereiweiss glaubte ich eine solche Substanz isoliert zu haben; jedenfalls war sie absolut thrombinfrei. Es war klar, dass dieser Versuch nur unter der Bedingung eines gleichzeitigen Thrombinzusatzes Aussicht hatte, zu gelingen, und dass ein solcher Zusatz stattgefunden hatte, gebe ich ausdrücklich an; aber ich habe es versäumt, besonders auszusprechen, dass die benutzte Fermentlösung keine schwache, sondern im Gegentheil eine sehr kräftig wirkende war; wahrscheinlich beruhte diese Versäumnis auf der Selbstverständlichkeit der Sache. Die geringen in der benutzten Fermentlösung enthaltenen Paraglobulinmengen kamen gegenüber der Masse der als Eiparaglobulin von mir angesehenen Substanz, welche in der Transsudatprobe aufgelöst wurde, als versuchsstörend nicht in Betracht. Ich erhielt die grösste Fibrinziffer, die ich je in einem Transsudat gefunden habe, nämlich 0,220 %.

Hammarsten hat diesem Versuch eine ausführliche Auseinandersetzung gewidmet, um seine Unhaltbarkeit zu beweisen.[3])

---

[1]) Pfl. Arch. Bd. XI, p. 321—23.

[2]) Ebendas. Bd. XIII, p. 115.

[3]) Ebendas. Bd. XVIII, p. 91—98.

Ich gebe ihn ihm indess vollständig preis. Er blieb der einzige und es mag sich deshalb wohl ein Fehler in ihn eingeschlichen haben. Er verlor für mich das Interesse, weil ich mittlerweile auf anderen Wegen, die mich freilich weit hinausführten, der Frage näher zu treten mir vorgenommen hatte.

Nach dieser Abschweifung kehre ich zu der in diesem Kapitel mitgetheilten, die Wirkung der Salze bei der Faserstoffgerinnung betreffenden Versuchsreihe zurück. Man überblicke sie mit Rücksicht auf die durch die Salzzusätze herbeigeführte Vergrösserung der Faserstoffmenge und frage sich, ob diese Wirkung ihrem Wesen nach gleich sein kann mit derjenigen, welche das Cytoglobin, Präglobulin und, worauf es mir hier besonders ankommt, welche das Paraglobulin auf dieselbe Grösse ausüben. Eine solche Ansicht, speciell mit Rücksicht auf das $CaCl_2$ ist meines Wissens zuerst von Hammarsten in seiner ersten Arbeit über die Faserstoffgerinnung ausgesprochen worden. Er spricht in ihr die Meinung aus, dass derselbe Erfolg, welchen ich in Betreff des Faserstoffgewichts durch Zusatz von Paraglobulin erzielt hatte, auch ohne denselben durch Zusatz geringer Mengen von Chlorcalcium erzielt werden könne.[1]) Da er aber in seinen späteren Arbeiten auf diese Annahme nicht mehr zurückkommt, so schliesse ich, dass er sie aufgegeben hat. Weil ich aber nicht weiss, ob sie nicht noch bei Anderen fortwirkt, so will ich hier kurz bei ihr verweilen.

Ich verweise zunächst auf die Kleinheit der durch $CaCl_2$ ebenso wie durch das NaCl bewirkten Massenzunahme des Faserstoffs verglichen mit derjenigen, welche durch die Zellenbestandtheile ebenso wie durch das Paraglobulin herbeigeführt wird. Wichtiger aber noch ist die Thatsache, dass ein und dieselbe Menge dieser Salze, je nach der Beschaffenheit der Gerinnungsflüssigkeit bald fibrin-

[1]) „Untersuchungen über die Faserstoffgerinnung." Nova acta Reg. soc. scient. Upsal. Ser. III Vol. X, 1. Separatabdruck. Upsala 1875.

vermehrend, bald fibrinvermindernd wirkt; eine gegebene Menge Paraglobulin aber führt immer zu einer Fibrinvermehrung. Uebergrosse Mengen von Paraglobulin, wenn sie als Brei in die Gerinnungsflüssigkeiten (Blutplasma oder proplastische Transsudate) gelangen, hemmen allerdings in gewissem Sinne die Faserstoffgerinnung, aber auf ganz andere Weise als grosse Salzmengen. Die letzteren unterdrücken die Thrombinentwickelung. Ich bin nun zwar nicht in der Lage, mit Bestimmtheit zu behaupten, dass grosse Paraglobulinüberschüsse eine derartige Wirkung gar nicht ausüben, da ich darüber nicht experimentiert habe; aber jedenfalls findet trotz ihrer denn doch eine beschränkte Thrombinentwickelung und Thrombinwirkung statt; denn es treten bald umfangreiche körnige und flockige Niederschläge einer Substanz auf, offenbar durch vorzeitige Ausscheidung des im Erstehen begriffenen kolloidalen Faserstoffs bedingt, als unfertiger Faserstoff. Die Fermentwirkung bleibt also auf halbem Wege stehen und der Grund hierfür dürfte wohl in dem Umstande liegen, dass die globulinlösenden Bestandtheile der Gerinnungsflüssigkeiten durch die grossen Paraglobulinmassen so in Anspruch genommen worden sind, dass sie das zunehmend unlöslicher werdende fermentative Umwandlungsprodukt bald nicht mehr, oder doch nicht mehr ganz in Lösung zu erhalten vermögen, eine Art der Ausscheidung unfertigen Faserstoffs, die ich in dieser Arbeit schon erwähnt habe.

Auf Grund der Beobachtung von W. Kuehne und P. Plosz, dass der gewöhnliche Faserstoff, der stets Paraglobulin einschliesst, nach gründlicher Extraktion mit einer Salzlösung sich bei 30—40 ° C. nicht mehr in Kochsalzlösung auflöst, fügte Hammarsten zu der einen von zwei gleich grossen Portionen seiner Fibrinogenlösung, nachdem er sie mit gleichen Mengen einer nach meinen damaligen Angaben bereiteten, also sehr schwach wirkenden Thrombinlösung versetzt hatte, eine Lösung „von viel Paraglobulin“ in Kochsalz und zu der anderen dieselbe Menge einer gleich starken Kochsalzlösung und fand nun, dass von den in beiden Portionen

entstandenen „reichlichen und voluminösen Fibrinmassen", die in der paraglobulinhaltigen Portion enthaltenen nach Verlauf von einigen Stunden unter Trübung des Serums sich lockerten und im Laufe von 8—20 Stunden bei Zimmerwärme sich ganz zu einer trüben Flüssigkeit auflösten, während in der paraglobulinfreien Portion selbst nach 24 bis 48 Stunden keine Spur einer Auflösung des Faserstoffs zu bemerken war.[1]) Ich habe ganz die gleichen Erfahrungen an meinen gesättigt alkalischen Globulinlösungen nach reichlichem Paraglobulinzusatz gemacht, aber meiner Ansicht nach handelte es sich bei unsren Versuchen nicht um die Wiederauflösung des ausgebildeten Faserstoffs durch die „fibrinlösende" Wirkung des Paraglobulins (die Hammarsten vermuthungsweise auf das durch Zersetzung des vom Paraglobulin eingeschlossenen Lecithins freiwerdende fibrinlösende Neurin bezieht), sondern um eine durch die zu grossen Paraglobulinmengen gehemmte Faserstoffbildung, also um die Ausscheidung eines unfertigen Faserstoffs, der natürlich viel leichter dem Zerfall und der Auflösung unterliegt, als der ausgebildete Faserstoff.

Dass die Quantität des Produkts eines chemischen Processes grösser oder kleiner ausfällt, je nachdem man das Material, aus welchem es entsteht, vermehrt oder vermindert, innerhalb engerer Grenzen aber auch, je nachdem man gewisse den Process in mehr äusserlicher, unwesentlicher Weise beeinflussende Umstände steigert oder herabsetzt, ist doch kein so fernliegender Gedanke, dass er bei Beurtheilung der Wirkungen, welche das Paraglobulin einerseits und die Salze andrerseits auf die Quantität des Produkts der Faserstoffgerinnung ausüben, nicht in Anwendung kommen dürfte. Könnten wir sie darum befragen, so würde das $CaCl_2$ wohl bescheidentlich seine Verwandtschaft mit dem NaCl anerkennen und das Paraglobulin würde, seiner Abkunft aus höheren Sphären sich erinnernd, seine angeborenen und berechtigten Eigenthümlichkeiten

[1]) Pfl. Arch. Bd. 30, p. 451.

sich zu wahren wissen und jede Gemeinschaft mit den Salzen ablehnen. Oder sollen auch das Cytoglobin und das Präglobulin in die Salzregion hinabgestossen werden?

Aber es giebt, abgesehen von den mit $CaCl_2$ angestellten Versuchen, noch andere, aus späterer Zeit, welche den Beweis liefern sollen, dass eine Beziehung zwischen dem Paraglobulin und dem Faserstoff in dem von mir statuierten Sinne nicht existiert.

Bevor ich indess auf sie eingehe, scheint es mir für alle Fälle wünschenswerth zu sein, eine Verständigung über das Wort „fibrinoplastisch“ herbeizuführen, das jetzt nicht immer im gleichen Sinne gebraucht wird. Den später Paraglobulin genannten Eiweisskörper bezeichnete ich als fibrinoplastische Substanz, weil er in meinen ersten, vorzugsweise mit Transsudaten angestellten Versuchen bei äusserlicher Betrachtung als der die Gerinnung verursachende, aktive Faktor erschien, während die Transsudate an sich unveränderlich waren, der in ihnen enthaltene Faktor also mehr als etwas im Beharrungzustande befindliches, passives sich darstellte; ich bezeichnete den letzteren demnach als fibrinogene Substanz. Mich leiteten dabei nur Rücksichten der bequemen Bezeichnung. Wäre meinerseits die Entdeckung und Darstellung der fibrinogenen Substanz früher erfolgt, so hätte ich mit ihr in dem an sich unveränderlichen Blutserum Gerinnungen erzeugt und sie dann mit ebenso viel Grund als die fibrinoplastische Substanz bezeichnen können, wie denn auch diese Namen zu meiner ersten Annahme, dass der Faserstoff durch eine Verbindung beider Stoffe entstehe, keineswegs passen. Seitdem ich nun das Ferment entdeckt habe, passt die Bezeichnung fibrinoplastisch streng genommen nur auf dieses und durchaus nicht mehr auf das Paraglobulin; aber eine solche Uebertragung würde nur zu neuen Wirren Anlass geben und wäre ausserdem durchaus überflüssig, da das Ferment schon seinen Namen erhalten hat, und zwar einen viel handlicheren. Das Paraglobulin aber wirkt durchaus nicht

fibrinbildend, sondern es wirkt nach meiner Auffassung, das Vorhandensein des fibrinbildenden Faktors vorausgesetzt, nur fibrinvermehrend. Der diese Wirkung am passendsten bezeichnende technische Ausdruck wäre demnach fibrinauktisch (augere), wenn er nicht zu fremdartig klänge. Nun bin ich aber in der Litteratur Fällen begegnet, in welchen von einer fibrinoplastischen Wirkung bald im Sinne einer Hervorrufung der Gerinnung überhaupt, also einer fermentativen Wirkung die Rede ist, bald, und zwar fälschlicherweise, im Sinne einer durch einen Paraglobulinzusatz herbeigeführten Fibrinvermehrung. Wenn z. B. ein proplastisches Transsudat in Folge eines Paraglobulinzusatzes gerinnt, so kommt doch zu allererst die Frage nach der wesentlichen Ursache dieser Erscheinung in Betracht, die durch das vom Paraglobulin eingeschlossene Thrombin dargestellt wird; hier könnte man allenfalls von einer fibrinoplastischen Wirkung sprechen, obgleich der Ausdruck fermentative Wirkung doch viel näher liegt und deutlicher ist. In Bezug auf die Frage aber, ob die Substanz des Paraglobulins selbst als fibrinvermehrender Faktor zur Geltung kommt, von einer fibrinoplastischen Wirkung des Paraglobulins zu reden, würde nur zu Irrungen führen. Ich selbst habe das Wort fibrinoplastisch schon seit langer Zeit ganz fallen lassen und es wäre gut, wenn dies allgemein geschähe; es ist ein durchaus überflüssiges Wort, da mit dem Namen Thrombin und mit der näheren Bestimmung fermentativ alle Bedürfnisse gedeckt sind und da es für andere Fälle nicht passt.

Hammarsten[1]) hat im Jahre 1878 zum Zwecke der Widerlegung meiner damaligen Vorstellungen über die Betheiligung des Paraglobulins bei der Faserstoffgerinnung eine Reihe von Versuchen mit nach seiner Angabe thrombinfreiem Paraglobulin mitgetheilt, auf welche er seine Behauptung, dass die von mir be-

[1]) Pfl. Arch. Bd. XVIII, p. 57—90.

obachtete und von ihm nicht geleugnete fibrinvermehrende Wirkung des Paraglobulins nicht von seiner Substanz, sondern von gewissen dieselbe verunreinigenden Einschlüssen, am wahrscheinlichsten vom Thrombin selbst, abhängt, begründet. Die Einwandsfreiheit seiner Versuche vorausgesetzt, genügen sie aber noch nicht dazu, meine Auffassung über die Bedeutung des Paraglobulins als eines unerlässlichen Faktors der Gerinnung zurückzuweisen, noch weniger aber widerlegen sie — und können es ihrer Natur nach auch gar nicht — diejenige Seite meiner Versuche, auf welche sich meine Behauptung, dass das Paraglobulin dort, wo es vorkommt, auch mitthut und die Masse des Produkts vergrössert, und deshalb sind sie auch nicht geeignet, die Annahme, dass dieser Effekt des Paraglobulins nicht von seiner Substanz, sondern von irgend welchen Einschlüssen abhängt, zu stützen, ganz abgesehen davon, dass diese Annahme, insbesondere was das Ferment betrifft, auch noch auf andere Weise widerlegt werden kann.

Ich will jetzt zuerst über die Methoden, nach welchen Hammarsten sich thrombinfreies Paraglobulin verschafft hat, berichten.

1. Er trennte im Magnesiumsulfatplasma das Paraglobulin von der fibrinogenen Substanz zuerst durch Fällung mit Chlornatriumsaturation, dann mit gepulvertem Kochsalz und zuletzt durch mehrmaliges Auflösen des Filtrats mit verdünnter und Ausfällung mit gesättigter Kochsalzlösung; schliesslich wurde das Paraglobulin in Wasser durch Vermittelung des rückständigen Kochsalzes gelöst und die so gewonnene Lösung zu den Versuchen benutzt. Nach dieser Methode soll es möglich sein, thrombinfreie Paraglobulinlösungen zu erhalten. Bei einer früheren Gelegenheit[1]) habe ich selbst die Erfahrung gemacht, dass das Paraglobulin aus einer Lösung in schwefelsaurer Magnesia durch Fällen und Wiederauflösen mit Kochsalzlösung vom Paraglobulin bis auf einen unbe-

[1]) Pfl. Arch. Bd. XIII, p. 134.

deutenden Rest befreit werden kann, und da ich bei dieser Reinigungsprocedur bei weitem nicht so energisch verfuhr wie Hammarsten, so habe ich keinen Grund an der Thrombinfreiheit seiner Paraglobulinlösungen zu zweifeln, um so weniger, als ihm als Reaktionsflüssigkeit in dieser ganzen Versuchsreihe die Hydroceleflüssigkeit diente, welcher gegenüber etwa doch noch zurückgebliebene Fermentspuren gar nicht in Betracht kommen.[1])

2. Hammarsten erwärmt das Blutserum bis 56—59° C. und erhält es einige Zeit auf dieser Temperatur (in den zwei von ihm mitgetheilten Versuchen das eine mal 7, das zweite mal 9 Minuten); nach dem Erkalten fällt er das Paraglobulin aus dem mit Wasser verdünnten Serum durch Essigsäurezusatz. Der Niederschlag wurde in Wasser mittelst möglichst wenig NaCl gelöst, durch viel Wasser gefällt und diese Reinigungsprocedur noch einige mal wiederholt. Das auf diese Weise gereinigte Paraglobulin wurde, nachdem es entweder in Wasser vertheilt oder in verdünnter NaCl-Solution aufgelöst worden, der Hydroceleflüssigkeit zugesetzt. Auch hier zweifle ich nicht daran, dass das Thrombin durch die zerstörende Wirkung der Wärme und die sich daran schliessende Reinigungsprocedur aus dem Paraglobulin fortgeschafft worden ist, vielleicht gleichfalls bis auf Spuren, deren Wirkung auf die Hydroceleflüssigkeit für Null angesehen werden kann.[2])

3. Hammarsten findet in Uebereinstimmung mit einer früheren Angabe von mir, dass der aus einer Hydroceleflüssigkeit unter den günstigsten Bedingungen ausgeschiedene Faserstoff an Masse hinter dem in ihr enthaltenen Globulin zurückbleibt und zwar nach seinen Beobachtungen sehr weit. Indem er nun aus dem Gewicht des Faserstoffs auf dasjenige der fibrinogenen Sub-

[1]) Pfl. Arch. Bd. XVIII. Darstellungsmethode des thrombinfreien Paraglobulins sowohl, als die damit ausgeführten Versuche auf p. 57—63.

[2]) Pfl. Arch. Bd. XVIII. Darstellungsmethode des Paraglobulins und Versuchsreihe p. 63—73.

stanz zurückschliesst und letzteres vom Gesammtgewicht des in der Hydroceleflüssigkeit enthaltenen Globulins abzieht, bleibt ihm ein bedeutender Rest, den er aus verschiedenen Gründen für Paraglobulin erklärt. Um dieses Hydroceleparaglobulin zu isolieren, wählte er sich diejenigen Hydroceleflüssigkeiten aus, welche die kleinsten Faserstoffmengen lieferten, also nach ihm auch am wenigsten von der fibrinogenen Substanz enthielten. Sie wurden genau neutralisiert, mit Wasser stark verdünnt und Kohlensäure durchgeleitet; der mittelst möglichst wenig NaCl in Wasser gelöste Niederschlag wurde in gewöhnlicher Weise mit grossen Wassermengen gefällt u. s. w. In welcher Form die Substanz schliesslich zum Versuch benutzt wurde, ob in Wasser vertheilt oder in salziger Lösung, finde ich nicht angegeben.[1])

Dass diese aus den Hydroceleflüssigkeiten gewonnene Substanz wirklich Paraglobulin gewesen, halte ich nicht für bewiesen, aber ich will es gelten lassen. Vor allen Dingen aber sehe auch ich sie für fermentfrei, und zwar für absolut fermentfrei an.

Mit dem auf diesen drei verschiedenen Wegen gewonnenen fermentfreien Paraglobulin stellte Hammarsten eine Versuchsreihe an, deren Anordnung mit der von mir in meinen erwähnten früheren Versuchen beobachteten, wie er besonders hervorhebt, übereinstimmte; d. h. er verfuhr folgendermassen:

1) er versetzte die Hydroceleflüssigkeit mit dem gleichen Volum einer nach meinen Angaben bereiteten paraglobulinfreien Thrombinlösung: es erfolgte keine Gerinnung; 2) er brachte ausser der Thrombinlösung auch noch thrombinfreies Paraglobulin in die Hydroceleflüssigkeit: ebenfalls keine Gerinnung, gleichgültig nach welcher von jenen drei Methoden er dieses Paraglobulin gewonnen hatte; 3) statt des thrombinfreien Paraglobulins fügte er der mit meiner Fermentlösung versetzten Hydroceleflüssigkeit gewöhnliches, fermenthaltiges Paraglobulin hinzu: die Gerinnung

[1]) Ebend. Darstellungsmethode und Versuchsreihe p. 73—87.

trat ein. Was lässt sich nun aus diesen Versuchsergebnissen schliessen?

Nachdem der Zusatz der Fermentlösung allein einen negativen Erfolg gehabt, gerannen die von mir benutzten proplastischen Transsudate, als ich ausserdem noch gewöhnliches (fermenthaltiges) Paraglobulin ihnen zugesetzt hatte, ebenso aber auch, eben wegen des eingeschlossenen Ferments, nach Zusatz von Paraglobulin allein; das Versuchsresultat war also jetzt ein positives. Ich schloss hieraus, dass das Paraglobulin neben dem Ferment und der fibrinogenen Substanz einen dritten nothwendigen Faktor der Faserstoffgerinnung darstelle und in weiterer Consequenz, dass die proplastischen Transsudate kein Paraglobulin enthalten könnten, da der Zusatz dieses dritten Faktors sich für ihre Gerinnung als nothwendig erwies. Ueber die Art und Weise, wie das Paraglobulin bei der Faserstoffgerinnung mitwirke, belehrten mich weitere Versuche, durch welche ich feststellte, dass die Masse des Faserstoffs in einem bestimmten Verhältniss mit der Grösse des Paraglobulinzusatzes wächst, woraus ich schloss, dass auch eine Beziehung zwischen seiner Substanz und der des Paraglobulins besteht.

Die von mir aus diesen Versuchen gezogene Consequenz, dass das Paraglobulin einen nothwendigen Faktor der Faserstoffgerinnung bilde, war hinfällig, sobald gezeigt werden konnte, dass das Ausbleiben der Gerinnung nach dem Zusatz meiner Thrombinlösungen nur durch ihre geringe fermentative Wirksamkeit bedingt war, sobald also der Versuch mit einer sehr wirksamen und zugleich paraglobulinfreien Thrombinlösung (deren Darstellung mir damals nicht gelang) zu einem positiven Resultat, zur Gerinnung, führte. Dass dies möglich ist, bezweifle ich jetzt nicht. Aber die Thatsache, dass ein Paraglobulinzusatz die Faserstoffgerinnung beeinflusst und zwar so, dass die Menge des Faserstoffs mit seiner Grösse in geradem Sinne bis zu einer gewissen Grenze wächst,

bleibt trotzdem bestehen und es kommt nur darauf an, sie richtig zu deuten.

Wie steht es nun mit den bezüglichen Versuchen von Hammarsten? Er konnte sagen: „hier ist dieselbe Reaktionsflüssigkeit und dieselbe Fermentlösung, die zu den Schmidt'schen Versuchen benutzt wurden; das Zusammenmischen derselben führt thatsächlich zu keiner Gerinnung. Wenn aber ausserdem noch fermentfreies Paraglobulin der Flüssigkeit hinzugefügt wird — so gerinnt sie auch nicht." Richtig; was folgt aber daraus? etwa, dass das Paraglobulin bei der Faserstoffgerinnung entbehrlich ist? doch gewiss nicht. Das Versuchsresultat ist ja ein negatives. Wie kann durch einen Gerinnungsversuch irgend etwas über die Nothwendigkeit oder Entbehrlichkeit eines Faktors entschieden werden, bei welchem die Gerinnung überhaupt gar nicht stattfindet? Und Hammarsten konnte dieses Ergebniss voraussehen, denn in derselben Arbeit, in welcher er diese Versuche mittheilt, giebt er an, durch den alleinigen Zusatz einer sehr wirksamen, nach einer besonderen von ihm erfundenen Methode dargestellten Thrombinlösung die Gerinnung der Hydroceleflüssigkeit bewirkt zu haben. Er wusste also, dass die nach meiner Methode bereitete Thrombinlösung in Hinsicht auf den zu erreichenden Zweck so schwachwirkend war, dass sie sich in der Hydroceleflüssigkeit, wie der Erfolg lehrte, als Nullität verhielt. Nun setzte er der Flüssigkeit ein Paraglobulin zu, das entweder gar kein Thrombin oder doch nur sehr geringe, gleichfalls als Nullität zu betrachtende Spuren davon enthielt. $0 + 0$ giebt 0; von einer Gerinnung konnte also keine Rede sein.

Wenn sich nun aus den Hammarsten'schen Versuchen nichts über die Frage der Nothwendigkeit oder Entbehrlichkeit des Paraglobulins bei der Faserstoffgerinnung ergiebt, so fragt sich doch, was denn aus ihnen gefolgert werden kann? Wie mir scheint eine Alternative. Man könnte nämlich daran denken, dass mit dem fermentfreien Paraglobulin etwas die Gerinnung hinderndes

in die Flüssigkeit gelangt ist. Dass aber das Paraglobulin eine in dieser Art wirkende Beimengung enthalten sollte, wäre eine durch nichts begründete, vielmehr an sich höchst unwahrscheinliche Unterstellung, deren es schon deshalb nicht bedarf, weil die Flüssigkeit ja auch ohne den Paraglobulinzusatz nicht gerann. Dann bleibt, wie mir scheint, zur Erklärung der Nichtgerinnung der mit fermentfreiem Paraglobulin versetzten Flüssigkeitsproben nur die Annahme übrig, dass es ihnen noch an einem wesentlichen Faktor der Faserstoffgerinnung fehlt, und dass diese Annahme das richtige trifft und zugleich welcher Art der mangelnde Faktor ist, zeigt der präcise Eintritt der Gerinnung in der dritten, statt mit thrombinfreiem mit gewöhnlichem, thrombinhaltigem Paraglobulin versetzten Flüssigkeitsprobe; es fehlte also (wir wissen es übrigens schon) am specifischen Ferment, dem Thrombin. Da nun diese Versuche Hammarsten's auch nichts über die Frage aussagen, ob das zugesetzte fermenthaltige Paraglobulin die Masse des Faserstoffs vergrössert, weil von einer Vergleichung der bezüglichen Quantitäten nicht die Rede sein kann, wenn von drei Gerinnungsproben nur eine gerinnt, und weil Versuche mit steigendem Paraglobulinzusatz nicht vorliegen, so beweisen alle diese Versuche mit thrombinfreiem Paraglobulin schliesslich doch nur, dass das Thrombin ein nothwendiger Faktor der Gerinnung ist, — und ein neuer Beweis für die Richtigkeit dieses Ergebnisses früherer Forschungen mag denn auch, vom Standpunkt des „je mehr, je besser" betrachtet, ganz erfreulich sein.

Ich habe schon hervorgehoben, dass, um die Beweiskraft meiner mit proplastischen Transsudaten angestellten Versuche hinsichtlich der Bedeutung des Paraglobulins als eines neben der fibrinogenen Substanz und deren Thrombin sich als wesentlich erweisenden dritten Faktors der Faserstoffgerinnung zu beseitigen, nichts weiter nöthig war, als zu zeigen, dass zur Herbeiführung der Gerinnung dieser Flüssigkeiten nichts mehr als der Zusatz einer wirksameren und zugleich vollkommen paraglobulinfreien

Thrombinlösung erforderlich ist. Eine solche Lösung (sog. Magnesiumfermentlösung) giebt ja Hammarsten an dargestellt und mit ihr allein die Gerinnung der Hydroceleflüssigkeit bewirkt zu haben. Mehr bedurfte es nicht. Aber Hammarsten will durch seine Versuche, sowohl durch die mit thrombinfreiem Paraglobulin, als auch durch die mit seinem Magnesiumferment ausgeführten noch etwas anderes bewiesen haben, nämlich dass auch die „fibrinoplastische Wirkung" des Paraglobulins nicht von der Globulinsubstanz selbst, sondern von einer Verunreinigung, und zwar vom eingeschlossenen Ferment herrührt. Hier kann mit dem Ausdruck „fibrinoplastische Wirkung" doch nur die von mir constatierte Fibrinvermehrung in Folge eines Paraglobulinzusatzes gemeint sein, denn dass die fermentative Wirkung, die Erzeugung der Bildung des Faserstoffs, nicht von der Substanz des Paraglobulins, sondern von einem ganz anderen Stoff ausgeht, ist ja die Grundvoraussetzung seiner sowohl wie meiner Arbeiten.[1])

Thatsächlich hatte ich in meinen damaligen Versuchen um so mehr Faserstoff erhalten, je grösser der Paraglobulinzusatz war und je grösser dieser war, um so mehr Thrombin gelangte in die Reaktionsflüssigkeit; in diesem letzteren Umstande soll also nur die Ursache des Wachsthums der Fibrinziffer mit dem Paraglobulinzusatz gegeben sein.

Dass Hammarsten's Versuche mit thrombinfreiem Para-

---

[1]) Hammarsten will mit dem Ausdruck „fibrinoplastische Wirkung" erklärterweise (A. a. O. p. 87) sich dem Sinne nach an Brücke's Anschauung anschliessen. Wenn aber Brücke sagt, der aus verdünntem Blutserum bei Kohlensäuredurchleitung entstehende Niederschlag dürfte aus zwei Substanzen bestehen, A aus dem Paraglobulin und B aus der fibrinoplastischen Substanz, so meinte er unter B einen in dem Niederschlag enthaltenen, im übrigen unbekannten Stoff, zu dessen Eigenschaften es gehört, die Transsudate gerinnen zu machen. Dieser Stoff ist das Ferment. Von einer unter Umständen stattffndenden Fibrinvermehrung und ihren Ursachen war bei ihm nicht die Rede und konnte es auch nicht sein.

globulin eine solche Abhängigkeit der Fibrinziffer von der Quantität des Ferments nicht beweisen können, habe ich schon gezeigt. Aber er giebt ausserdem an und bezeichnet es zugleich als im höchsten Grade der Beachtung werth, dass er mit seinen Magnesiumfermentlösungen in den Hydrocelefiüssigkeiten „nur nicht (nicht nur? S.) überhaupt Gerinnungen, sondern bisweilen sogar ebenso reichliche und noch reichlichere Gerinnungen wie mit Serum oder recht bedeutenden Paraglobulinzusätzen erzeugen konnte", indem er zugleich verspricht, dies in einer der folgenden Abhandlungen durch „eine ziemlich grosse Anzahl von Versuchen" zu beweisen.[1]) Nun folgen in Pflüger's Archiv noch drei die Faserstoffgerinnung betreffende Abhandlungen von ihm (Bd. XIX, XXII und XXX), aber den verkündeten Versuchen begegnet man in ihnen nicht. Er kommt zwar noch einmal auf das Magnesiumferment zurück, aber nur um zu zeigen, dass bei der Gerinnung seiner aus Blutplasma hergestellten Fibrinogenlösungen neben dem Faserstoff zugleich geringe Mengen einer bisher unbekannten globulinartigen Substanz entstehen (vielleicht ein neben dem kolloidalen Faserstoff aus der fibrinogenen Substanz entstehendes Spaltungsprodukt).[2]) Zu diesen Versuchen bedurfte er allerdings einer durchaus paraglobulinfreien Thrombinlösung, aber zugleich haben sie nichts mit dem uns hier beschäftigenden Gegenstand zu thun. Diese Nichterfüllung seiner Zusage, ja der Mangel jeder späteren Erwähnung derselben lässt es doch fraglich erscheinen, ob die in den so eben citierten Abhandlungen enthaltenen Angaben sich weiterhin bewährt haben. So allgemein gehaltene Angaben genügen hier aber durchaus nicht; um die Frage zu entscheiden, sind genaue vergleichende Versuche mit ziffernmässig belegten Resultaten erforderlich. Und es erscheint principiell leicht derartige Versuche auszuführen; denn es war dazu ja nur nöthig,

[1]) A. a. O. p. 90.

[2]) Pfl. Arch. Bd. XXX, p. 457 ff.

eine abgemessene Probe der Reaktionsflüssigkeit mit Magnesiumferment, die andere ausserdem mit thrombinfreiem Paraglobulin zu versetzen und die gewonnenen Fibrinmengen mit einander zu vergleichen; Proben mit wachsenden Paraglobulinzusätzen würden zur Vervollständigung und sichereren Begründung der Ergebnisse dienen. Man liest aber in Betreff der feststehenden Thatsache der Vergrösserung der Faserstoffmenge in Folge eines Paraglobulinzusatzes in Hammarsten's Arbeiten zwar recht viel Text, aber man begegnet keinem einzigen bezüglichen messenden Versuch. Welcher Art der Erfolg solcher Versuche sein würde, ist mir nicht zweifelhaft. Uebrigens wäre man nach meinen Erfahrungen über die Unabhängigkeit der Fibrinziffer von der Thrombinmenge bei Anstellung solcher Versuche durchaus nicht an das thrombinfreie Paraglobulin gebunden, dessen Herstellung nach Hammarsten doch immer mit Umständlichkeiten verknüpft ist. Ganz gewöhnliches vom Ferment verunreinigtes Paraglobulin würde dieselben Dienste leisten wie das geeinigte; denn ein damit in die Reaktionsflüssigkeit gelangender Zuwachs an Thrombin zu den bereits ihr zugesetzten reichlichen Mengen desselben würde eben auf die Fibrinziffer gar keinen merklichen Einfluss ausüben. Aber auch des Magnesiumferments, dessen Lösungen wenn auch nicht mit Albumin, so doch mit Serumalbumin verunreinigt sein sollen, bedarf es bei diesen Versuchen nicht nothwendig. Eine nach meiner Methode dargestellte kräftig wirkende Thrombinlösung erscheint ebenso brauchbar, sobald man bedenkt, dass von den geringen sie verunreinigenden Paraglobulinmengen gegenüber denjenigen Quantitäten dieser Substanz, welche man in der Lage ist nach Gutdünken in die Reaktionsflüssigkeit zu bringen und gegenüber den grossen Fibrinzuwächsen, welche ich in meinen früheren Versuchen dadurch erzielt habe, überhaupt nicht die Rede sein kann.[1])

[1]) Auf einen solchen früher von mir ausgeführten Versuch will ich besonders hinweisen (Pfl. Arch. Bd. XI, p. 321). Hier erhielt ich in einer Pericardiumflüssigkeit vom Pferde nach Zusatz einer sehr wirksamen also para-

Allen Versuchen, die von mir beobachtete und als Paraglobulinwirkung gedeutete Fibrinvermehrung von Thrombin abhängig zu machen, stelle ich entgegen, dass nach meinen Erfahrungen grosse Thrombinmengen zwar schneller wirken, aber darum nicht mehr Faserstoff bilden als kleine, es sei denn, dass sie so klein sind, dass sie die in allen gerinnbaren Flüssigkeiten enthaltenen Gerinnungswiderstände innerhalb der durch die Natur der Sache zugemessenen Beobachtungsfrist nur theilweise oder selbst gar nicht zu überwinden im Stande sind. Andrerseits verweise ich auch auf die in diesem Kapitel mitgetheilten Versuche mit Plasma und Paraglobulin, deren Resultate mit denen meiner älteren Versuche durchaus übereinstimmen und den Parallelismus zwischen Fibrinziffer und Grösse des Paraglobulinzusatzes deutlich vor die Augen stellen.

Ich habe mich bisher auf den Standpunkt gestellt, dass die beiden Methoden, nach welchen Hammarsten aus dem Blutserum sein thrombinfreies Paraglobulin gewonnen, keinen verändernden Einfluss auf seine Substanz ausüben. Was die erste, die Kochsalzmethode, anbetrifft, so geben mir meine Erfahrungen keinen Grund an die Hand, sie für gefährlich zu halten. Hammarsten selbst erwähnt, dass die gereinigte Substanz insoweit verändert erschien, als sie durch NaCl in Substanz nicht mehr unvollständig gefällt wird, wie es beim typischen Paraglobulin der Fall ist, sondern vollständig. Diese Veränderung mag von geringer Bedeutung sein. Bedenklicher erscheint mir das Erwärmen des Blutserums auf 56—59°, besonders mit Rücksicht auf seine alkalische Reaktion und auch auf den Umstand, dass es einige Zeit lang,

globulinhaltigen Thrombinlösung 0,034% Faserstoff. Nach Paraglobulinzusätzen, welche sich wie 1 : 2 : 3 verhielten, betrugen die Fibrinprocente: 0,133,—0,175, —0,206. Die letzte Zahl ist das sechsfache von 0,034. Das Fibrinprocent bei Anwendung einer ganz paraglobulinfreien Thrombinlösung hätte also noch weniger als 0,034 betragen.

wenn auch in maximo nur während 9 Minuten, auf dieser Temperatur erhalten wurde. Ich will keineswegs behaupten, dass das Paraglobulin durch die combinierte Wirkung des Erwärmens und der Blutalkalien in Alkalialbuminat verwandelt worden sei, aber ich habe auch bemerkt, dass es seinen Einfluss auf die Fibrinziffer verliert, ehe es in ausgeprägter Weise die Eigenschaften des Albuminates angenommen, schon wenn seine Löslichkeit in verdünnten Alkalien, verdünnten Säuren und in Salzlösungen geringer geworden. Hammarsten selbst bemerkt, dass durch ein mehr anhaltendes Erwärmen des Serums das daraus gewonnene Paraglobulin sich deutlich verändert zeigt; aber auch nach dem von ihm geübten kurzdauernden Erwärmen des Serums erschien ihm das Paraglobulin in etwas verändert; so lag die Temperatur der Hitzegerinnung des erwärmten Paraglobulins zuweilen niedriger, als die des typischen; ferner schien es ihm, als ob das erwärmte Paraglobulin etwas weniger löslich in Neutralsalzen war, als das typische und seine Lösungen opalisierten stärker als die des letzteren. Eine beginnende Veränderung in der Richtung der Albuminatbildung scheint das Erwärmen denn doch herbeigeführt zu haben und deshalb dürfte man sich nicht wundern, wenn das erwärmte Paraglobulin bei Gerinnungsversuchen weniger stark auf die Fibrinziffer wirken sollte, als das typische; brauchbar zu solchen Versuchen wäre es immerhin. Hammarsten berichtet, dass er nach einem mehrstündigen Erwärmen seiner Fibrinogenlösung auf nur 37—40° C. Veränderungen an der in ihr enthaltenen Globulinsubstanz beobachtet hat, die meiner Meinung nach nur als beginnende Albuminatbildung aufgefasst werden können.[1])

Mit der Behauptung Hammarsten's, dass der grösste Theil des in den Hydroceleflüssigkeiten enthaltenen Globulins aus Paraglobulin besteht, kann ich mich aber nicht einverstanden erklären,

[1]) Pfl. Arch. Bd. XXII, p. 467.

es müssten denn diese Transsudate eine durchaus andere Zusammensetzung haben als die vom Pferde stammenden, mit welchen sie in Hinsicht der Unfähigkeit spontan zu gerinnen durchaus übereinstimmen. Meine abweichende Meinung fliesst keineswegs aus meiner Gerinnungstheorie; denn bei der von mir nachgewiesenen Unmöglichkeit der spontanen Fermententwickelung in den proplastischen Transsudaten wäre es ein Wunder, wenn in ihnen das Paraglobulin und die fibrinogene Substanz nicht vollkommen indifferent neben einander bestehen könnten und eine diesen Transsudaten gegenüber zu schwach wirkende Thrombinlösung würde eben nichts leisten können, mag das in ihnen enthaltene Globulin nun nur aus fibrinogener Substanz bestehen oder aus einem Gemenge dieser Substanz mit Paraglobulin oder irgend einer anderen Globulinform und mag die Wirkung des Ferments sich nur auf die fibrinogene Substanz, oder gemäss meiner Annahme auch zugleich auf das Paraglobulin beziehen. Hammarsten, dem es bekannt war, dass concentriertere Fermentlösungen die Hydroceleflüssigkeiten doch zum Gerinnen bringen, der also auch wusste, warum nach Zusatz meiner Fermentlösung der Erfolg ein negativer war, leitet doch aus dem letzteren Umstande Argumente, seiner Meinung nach die stärksten, gegen meine Auffassung der Bedeutung des Paraglobulins für die Faserstoffgerinnung ab. Seine Aufgabe war jetzt aber zu beweisen, dass bei der durch seine wirksamen Fermentlösungen herbeigeführten Gerinnung das in der Hydroceleflüssigkeit präsumierte Paraglobulin nicht betheiligt war. In Betreff seiner in dieser Sache gegen mich gerichteten Argumente verweise ich auf seine Abhandlung[1]); ob sie stichhaltig sind, mag der Leser beurtheilen.

Meine Zweifel an der Richtigkeit der Annahme Hammarsten's beruhen auf der Betrachtung der Eigenschaften der aus den proplastischen Transsudaten isolierten Globulinsubstanz; ich

[1]) Pfl. Arch. Bd. XVIII, p. 73—87.

finde da zu wenig Aehnlichkeiten mit dem Paraglobulin und zu viel Unähnlichkeiten, wobei ich als das typische Paraglobulin das aus Blutserum gewonnene betrachte. Die beiden Gründe, welche Hammarsten für seine Annahme anführt, dass der grösste Theil des Hydroceleglobulins aus Paraglobulin besteht, sind: die gleiche Temperatur der Hitzegerinnung und die unvollständige Fällbarkeit durch Uebersättigung mit Kochsalz. Das scheint mir gegenüber den leicht zu constatierenden Unähnlichkeiten doch zu wenig zu sein. Ich habe schon in meinen ersten Arbeiten hervorgehoben, dass die aus den typisch proplastischen Transsudaten, als deren einziger Repräsentant mir damals fast nur die Hydroceleflüssigkeit bekannt war, enthaltene Globulinsubstanz durch Verdünnen mit Wasser und Kohlensäuredurchleitung viel schwerer gefällt wurde, als es beim Blutserum der Fall war; der Kohlensäurestrom musste um den Niederschlag zu erzeugen viel längere Zeit einwirken, als auf das verdünnte Serum, resp. der Essigsäurezusatz musste ein bedeutend grösserer sein. Hammarsten hat durch besondere Versuche festgestellt, dass in den Hydroceleflüssigkeiten Stoffe enthalten sind, welche die Fällung der fibrinogenen Substanz durch CO_2 (und durch NaCl) bis zu einem gewissen Grade hemmen und ich acceptiere diese Beobachtung durchaus als richtig. Man könnte nun etwa annehmen, dass diese Stoffe auch die Fällung des Paraglobulins durch jene Mittel hemmen und hierin den Grund für die schwierigere Fällbarkeit des Hydroceleglobulins finden wollen. Aber Hammarsten hat das Vorhandensein ganz derselben hemmenden Stoffe auch im Blutserum nachgewiesen und doch geht die Fällung des Paraglobulins hier so leicht von statten.[1]) Es fände sich also, unter der Voraussetzung, dass das Hydroceleglobulin überwiegend aus Paraglobulin besteht, ein bis jetzt unerklärlicher Unterschied in der Fällbarkeit zwischen ihm und dem Serumparaglobulin. Weiter habe ich in jenen Arbeiten darauf

[1]) Pfl. Arch. Bd. XIX, p. 588—591.

aufmerksam gemacht, dass die aus verdünnten proplastischen Transsudaten durch Kohlensäure oder Essigsäure ausgeschiedene Substanz bedeutend schwerer löslich in Alkalien, Säuren und Neutralsalzen ist als das Serumparaglobulin, eine Beobachtung, die durch meine späteren Versuche mit den Höhlenflüssigkeiten des Pferdes bestätigt wurde. Soll man auch hier wieder an speciell nur in den proplastischen Transsudaten vorkommende Stoffe denken, welche von dem gefällten Globulin (dasselbe als Paraglobulin gedacht) mitniedergerissen werden und seine Löslichkeit in solchem Grade herabsetzen? Man liesse sich dabei denn doch auf eine rein ad hoc aufgestellte und an sich durchaus unwahrscheinliche Hypothese ein.

Es kommt aber dem in den proplastischen Transsudaten enthaltenen Globulin noch eine besondere Eigenschaft zu, die Hammarsten auch an seinem aus dem Blutplasma dargestellten Fibrinogen wahrgenommen hat und die er ausdrücklich für ein specifisches, die fibrinogene Substanz von Paraglobulin unterscheidendes Merkmal erklärt, das ist die zähe, klebrige Beschaffenheit ihrer Niederschläge. Ich habe meine bezüglichen Beobachtungen schon vor bald 19 Jahren mitgetheilt [2]) und betone dabei ausdrücklich, dass sie nur für solche Transsudate gelten, „welche nur die fibrinogene Substanz enthalten", womit ich damals dasselbe meinte wie jetzt unter der Bezeichnung proplastisch. Wie aus der citierten Arbeit zu ersehen ist, war damals die Zeit, in welcher ich zwar noch mit Hydroceleflüssigkeiten, aber auch schon mit den Höhlenflüssigkeiten des Pferdes arbeitete. Ich kann mich nun aber doch nicht so weit dieser Versuche erinnern, um anzugeben, ob ich meine Beobachtungen über die physikalische Beschaffenheit der betreffenden Globulinniederschläge an beiden Transsudatarten, oder nur an einer, und zwar an welcher, gemacht habe. Dass sie für die proplastischen Transsudate des Pferdes richtig sind, habe ich

[2]) Pfl. Arch. Bd. XI, p. 299.

bis in die neueste Zeit Gelegenheit gehabt zu constatieren. Leitet man durch ein mit 10—12 Volum Wasser verdünntes Transsudat vom Pferde einen starken Kohlensäurestrom oder setzt man tropfenweise verdünnte Essigsäure hinzu, so sei man zufrieden, wenn man es bis zu einer starken Oxalescenz gebracht hat, denn selten erzielt man eine wirkliche Trübung. Man überlasse nun die Flüssigkeit sich selbst. Nach einiger Zeit wird man finden, dass die Opalescenz sich zu einer feinen Trübung verdichtet hat und zugleich beginnt die langsame Senkung des Niederschlags, wozu ich ihm gewöhnlich bis zum folgenden Tage Zeit gebe. Man findet dann, dass ein kleiner Theil der ausgeschiedenen Substanz beim Niedersinken an den Wänden des Gefässes haften geblieben ist, während der viel grössere Rest als eine dünne weisse Schicht auf dem Boden liegt und gleichfalls fest an ihr haftet, so dass man die ganze Flüssigkeit bis zum letzten Tropfen abgiessen kann ohne den geringsten Substanzverlust zu erleiden. Giesst man nun neues Wasser in das Gefäss, so gelingt die Vertheilung der Substanz in demselben auch beim stärksten Schütteln immer nur theilweise. Ich sah mich stets genöthigt, durch Kratzen mit dem Glasstab ein übriges zu thun. Dabei aber sind Verluste an Substanz unvermeidlich, weshalb ich mich, wenn ich nicht besondere Zwecke verfolge, immer nur der Methode der Fällung durch Uebersättigung mit Kochsalz bediene. Die von dem Gefäss auf diese Weise mechanisch abgelöste Substanz erscheint zugleich wie zerbröckelt und die Brocken lassen sich nur sehr schwer durch Schütteln feiner vertheilen. Man vergleiche hiermit die voluminösen, lockeren nach derselben Methode erzeugten Niederschläge von Serumparaglobulin, die sich schon bei geringen Bewegungen des Gefässes gleichmässig und äusserst fein in der Flüssigkeit vertheilen, ohne dass etwas von ihnen am Gefäss haften bleibt. Da ich zu diesen Versuchen grössere Transsudatmengen, wenigstens 2—300 Ccm., verwandte, so war die absolute Menge an Substanz, die ich schliesslich gewann, gar nicht so gering; übrigens erscheint sie wegen

der Klebrigkeit ihrer Partikelchen im Vergleich mit den Niederschlägen von Serumparaglobulin kleiner als sie ist, resp. die letzteren erschienen wegen ihrer Lockerheit und Voluminosität zu gross. In der citierten Arbeit sage ich auch, dass in solchen Transsudaten, welche zugleich Paraglobulin enthalten, was mehr oder weniger von allen spontan gerinnenden, also von der Mehrzahl derselben, gilt, der Niederschlag eine andere Beschaffenheit hat. Er ist nämlich um so leichter beweglich, je mehr Paraglobulin das Transsudat enthielt. Man kann sich hiervon leicht überzeugen, wenn man im Transsudat, bevor man an das Verdünnen und Fällen geht, grössere Mengen von Serumparaglobulin auflöst. Bei der Ausscheidung schliesst dann das Paraglobulin die Partickelchen der fibrinogenen Substanz ein; es trägt sie gewissermassen, was ihm um so leichter wird, je grösser seine relative Masse ist. Man vergleiche nun mit diesen Beobachtungen, was Hammarsten über die physikalische Beschaffenheit der Niederschläge seines Fibrinogens sagt und man wird die Uebereinstimmung unschwer erkennen.[1]) Ich bin dabei vollständig mit ihm darüber einig, dass die fibrinogene Substanz durch dieses Merkmal sich wesentlich von Paraglobulin unterscheidet, aber ich finde eben auch, dass das Paraglobulin der proplastischen Transsudate ganz dasselbe Merkmal an sich trägt.

Aus diesen Gründen bezweifle ich, wenigstens mit Rücksicht auf die für die von mir untersuchten proplastischen Transsudate, dass die in ihnen enthaltene Globulinsubstanz aus ein wenig fibrinogener Substanz und sehr viel Paraglobulin besteht; eher bin ich der Meinung, dass sie, wenn sie nicht ihrer Totalmenge nach fibrinogener Natur sein sollte, aus einer kleinen Menge der ersteren und einer grösseren Menge einer bisher noch unbekannten Globulinform zusammengesetzt ist.

Hammarsten giebt, ohne eine Ausnahme zu machen, an,

[1]) Pfl. Arch. Bd. XXII, p. 432.

dass die zähe Beschaffenheit des Globulinniederschlags bei den Transsudaten wegen der Verunreinigung mit Paraglobulin „oder anderen mitgefällten Eiweissstoffen“ kaum deutlich zum Vorschein kommt, woraus ich schliesse, dass er bei seinen bezüglichen Versuchen die Höhlenflüssigkeiten des Pferdes unberücksichtigt gelassen hat. Bezieht sich seine Angabe auf die Transsudate, die man aus menschlichen Leichen oder aus den Körperhöhlen unserer Hausthiere, mit Ausnahme des Pferdes, erhält, so bin ich ganz mit ihm einverstanden, denn auch ich habe stets die Meinung vertreten, dass die grösste Mehrzahl derselben neben fibrinogener Substanz mehr oder weniger Paraglobulin enthält; erstreckt sie sich aber zugleich auf die Hydroceleflüssigkeit, nun so mag diese denn im Unterschiede von den anderen proplastischen Transsudaten neben der fibrinogenen Substanz auch zugleich Paraglobulin enthalten. Prinzipiell habe ich ja gar nichts dagegen.

In einer späteren Abhandlung versucht Hammarsten die fibrinvermehrende Wirkung des Paraglobulins auf eine andere Weise zu erklären. Seine bis jetzt von mir besprochene Erklärung kam darauf heraus, dass die Masse des Faserstoffs mit der Quantität des Ferments, resp. mit der Wirksamkeit seiner Lösungen wächst, und dass demnach die in meinen bezüglichen Versuchen nach Paraglobulinzusatz wahrnehmbar werdende augenfällige Vergrösserung der Faserstoffmenge nicht der Globulinsubstanz selbst, sondern dem von ihr eingeschlossenen Thrombin zuzuschreiben sei. Nach seiner späteren Ansicht wirkt das Paraglobulin nur dadurch fibrinvermehrend, dass es „einigen in den natürlichen Fibrinogenlösungen sich vorfindenden, gerinnungshemmenden Momenten entgegenwirkt“.[1]) Ich bemerke hierzu in Parenthese nur, dass ja auch in den künstlich hergestellten Gerinnungsflüssigkeiten, mögen die Lösungsmittel Alkalien oder Salze sein, die Ausbeute an Faser-

[1]) Pfl. Arch. Bd. XXX, p. 482.

stoff durch einen vorangegangenen Paraglobulinzusatz vergrössert wird. Da Hammarsten bei Gelegenheit dieses späteren Erklärungsversuchs des früheren keine Erwähnung thut, so weiss ich auch nicht, ob er den letzteren aufgegeben hat oder ob er beide als Möglichkeiten neben einander bestehen lassen will. Jedenfalls muss ich beide berücksichtigen.

Die Grundlage für die spätere Erklärungsweise geben ihm zwei mit seiner Fibrinogenlösung angestellte Versuchsreihen, von welchen die eine sich mit einer besonderen Art der Hitzecoagulation, die andere mit der gewöhnlichen fermentativen Gerinnung, der Faserstoffgerinnung, beschäftigt.

In der ersten Versuchsreihe lässt er eine Temperatur von 55—60° C. auf seine NaCl-haltige Fibrinogenlösung einwirken, wobei eine faserstoffähnliche Ausscheidung stattfindet. Beim Rühren mit einem Glasstab während des Erwärmens scheiden sich Fasern und Flöckchen aus, welche am Glasstab haften und sich oft, wie beim Quirlen des Blutes zu einer zusammenhängenden Masse vereinigen; die Lösung gesteht aber durch und durch zu einem festen, undurchsichtigen, weissen Kuchen, wenn man sie während des Erwärmens in Ruhe lässt. Trotz der auffallenden äusseren Aehnlichkeit dieser Gerinnung mit der gewöhnlichen fermentativen Gerinnung, soll sie doch etwas ganz anderes sein, weil dieselbe Fibrinogenlösung, wenn sie ganz fermentfrei ist, tagelang bei der für die fermentative Gerinnung sehr günstigen Temperatur von 47—40° C. erhalten werden kann, ohne die Spur einer Gerinnung zu zeigen; ja es kommt „bisweilen“ vor, dass die Lösung bei dieser Behandlung ganz gerinnungsunfähig geworden ist, wobei sie dann auch nicht mehr das ursprüngliche Fibrinogen, sondern ein wesentlich verändertes, resp. eine andersartige Globulinform enthält. Das beim Erwärmen auf 55—60° entstehende Gerinnsel soll hiernach also nicht aus dem eigentlichen auf fermentativem Wege gebildetem Faserstoff bestehen, sondern eine besondere Art von Hitzecoagulum darstellen. Die Gerinnung bei 55—60° C.

unterscheidet sich ferner von den durch höhere Wärmegrade erzeugten dadurch, dass nicht sämmtliches in der Fibrinogenlösung enthaltenes Eiweiss gefällt wird, sondern nur der grösste Theil; im Filtrat findet sich eine geringe Menge eines globulinartigen Eiweisskörpers, welcher durch eine Temperatur von 64—66° C. coaguliert wird und auf keine Weise durch Thrombin zum Gerinnen gebracht werden kann, demnach also weder fibrinogene Substanz, noch Paraglobulin darstellen kann. Da er nun auch aus Gründen, die in der Abhandlung angegeben sind, nicht als ein präformierter, in die künstliche Fibrinogenlösung übergegangener Plasmabestandtheil angesehen werden kann, so kann er nur aus dem Fibrinogen entstanden sein und das Resultat ist demnach, dass das Fibrinogen bei einer Temperatur von 55—60° C. einer Spaltung unterliegt, durch welche ein der Masse nach überwiegendes unlösliches und ein lösliches Produkt erzeugt werden.[1])

In der zweiten Versuchsreihe zeigt Hammarsten, dass auch bei der fermentativen Gerinnung seiner Fibrinogenlösungen, die er theils durch sein Magnesiumferment, theils durch Blutserum hervorrief, aus dem Fibrinogen zwei Produkte, ein lösliches und ein unlösliches entstehen; das unlösliche, an Masse überwiegende, ist hier der echte Faserstoff, das lösliche stimmt in allen seinen Eigenschaften mit dem durch die Spaltung bei 55—60° C. erzeugten überein.[2]) Indem er sich nun darauf beruft, dass in vielen Fällen „eine bestimmte Aequivalenz zwischen Fermentwirkungen und der Wirkung von Wärme“ erwiesen worden ist, hält er es für zweifellos, dass der chemische Verlauf „in beiden Fällen — bei der fermentativen Gerinnung wie bei der Gerinnung beim Erwärmen — derselbe ist“. Ich fasste Hammarsten's Meinung zunächst dahin auf, dass die Leistung des Ferments identisch sei mit derjenigen einer Temperatur von 55—60° C. und dass, da die

[1]) Pfl. Arch. Bd. XXII p. 447—460.

[2]) Pfl. Arch. Bd. XXX, p. 456—483.

letztere in einer Spaltung der fibrinogenen Substanz in ein unlösliches und ein lösliches Produkt bestehen sollte, ganz dasselbe auch von der fermentativen Gerinnung zu gelten habe; ein diese Auffassung unterstützendes Argument lag ja auch in der Gleichheit der in beiden Fällen entstehenden Spaltungsprodukte. Allein beim weiteren Lesen fand ich, dass ich falsch geschlossen hatte: bei der fermentativen Gerinnung soll es sich wahrscheinlicherweise doch nicht um eine Spaltung der fibrinogenen Substanz handeln, sondern das lösliche Gerinnungsprodukt soll nur einen in Lösung gebliebenen, allmählich — vielleicht in Folge einer Oxydation — umgewandelten Rest des aus dem Fibrinogen bei der Gerinnung entstandenen Fibrins darstellen, was er weiterhin dahin erklärt, dass es ein Theil des Zwischenprodukts der Gerinnung, des „löslichen Fibrins", also des kolloidalen Faserstoffs sei, welcher dieser Umwandlung unterliegt. Welche Auffassung soll aber dann von der durch Erwärmen bis 55—60° erzeugten Gerinnung gelten? doch offenbar dieselbe wie bei der fermentativen Gerinnung, denn sonst wäre ja der chemische Verlauf in beiden Fällen nicht derselbe. Von einer durch Erwärmen erzeugten Spaltung der fibrinogenen Substanz in ein unlösliches und ein lösliches Produkt wäre also keine Rede mehr, sondern nur von einem in Lösung bleibenden Rest, der auch durch die Wärme gebildeten löslichen Modifikation des Faserstoffs und von dessen weiteren Umwandlung. Ob dies auch Hammarsten's Meinung ist, weiss ich nicht, denn er spricht sich über diese Frage nicht aus.

Die Gründe, auf welche Hammarsten seine Auffassung über die Entstehung des löslichen Produkts der echten Faserstoffgerinnung stützt, sind 1) die bekannte Angabe von Denis, dass der aus dem venösen Menschenblut durch Schlagen gewonnene Faserstoff sich in Kochsalzlösung bei 40° C. innerhalb ein paar Stunden vollständig auflöst; 2) die Thatsache, dass die Menge des bei der Gerinnung ausgeschiedenen Faserstoffs durch eine Vermehrung des

Alkali- oder Salzgehalts herabgesetzt werden kann, was er mit für die Salze durch ein paar mit seiner Fibrinogenlösung und mit Kochsalz ausgeführte Versuche belegt.[1])

Ich kann diese Gründe nicht für hinlänglich zwingend anerkennen, um die wie mir scheint näher liegende Annahme einer Spaltung der fibrinogenen Substanz, die auch Hammarsten für die durch eine Temperatur von 55—60° erzeugte Gerinnung zunächst gelten liess, aufzugeben. Der Versuch von Denis betrifft nicht den kolloidalen, sondern den fertig geronnenen Faserstoff; da er ausserdem nur bei geschlagenem venösen Menschenblut gelingt, so stellt er ausserdem einen Ausnahmefall dar, der noch seiner Aufklärung harrt. Mit dem Faserstoff von venösem Pferdeblut z. B., mit dem ich doch häufig genug gearbeitet habe, gelingt er nie, ebensowenig, wie Denis selbst angiebt, mit dem aus arteriellem Menschenblut stammenden. Dass ein Ueberschuss an Alkalien oder Salzen, als zu den natürlichen Lösungsmitteln der Globuline gehörig, die Faserstoffausbeute vermindern, habe ich schon in meinen ersten Arbeiten oft genug erörtert; grössere Ueberschüsse lassen die Faserstoffausscheidung ja gar nicht zu Stande kommen und ich kann nicht einsehen, warum die Wirkung derselben eine das Produkt der chemischen Umsetzung theilweise in Lösung erhaltende und wesentlich unwandelnde und nicht ebensogut eine diese Umsetzung selbst beschränkende resp. ganz hemmende sein soll, da wir doch von manchen Spaltungen wissen, dass sie durch Alkalien oder Salze ungünstig beeinflusst werden können. Wenn in Hammarsten's Versuchen ein Ueberschuss von 1% NaCl schon genügte, um die Faserstoffziffer zu verkleinern, so ist zu bedenken, dass der benutzte Gerinnungsstoff sich nicht im Zustande seiner natürlichen Lösung (im Plasma) befand, sondern eine rein wässerig-alkalisch-salzige Lösung darstellte; ferner, dass der Salzzusatz ja auch nicht eine

[1]) Pfl. Arch. Bd. XXX, p. 477—479.

vollständige Unterdrückung der Gerinnung, sondern nur eine Abnahme der Faserstoffmenge bewirkte, die in dem einen Versuche 14,4% in den beiden anderen, bei bedeutend grösserer Substanzarmuth der Versuchsproben, 26,7 resp. 21,5% des Faserstoffs der bezüglichen Vergleichsproben betrug.

Indess will ich, da ich mich hier nicht auf eigne Versuche beziehen kann, meine Bedenken fallen lassen und die Auffassung des von Hammarsten gewonnenen löslichen Gerinnungsprodukts als eines in Lösung zurückgehaltenen und darauf umgewandelten Theiles des durch das Ferment erzeugten „löslichen Fibrins" für richtig acceptieren, welchen Standpunkt ich um so eher einnehmen kann, als es mir hier nicht um diese Frage selbst zu thun ist, sondern um die Erklärung der fibrinvermehrenden Wirkung des Paraglobulins, welche Hammarsten aus ihr ableitet. Es soll nämlich das Paraglobulin nicht direkt theilnehmen an der Bildung des Faserstoffs, sondern in indirekter Weise wirken, indem es das Verhältniss zwischen dem unlöslich werdenden und dem in Lösung bleibenden Endprodukt der Gerinnung, in welche das lösliche Fibrin sich gewissermassen theilt, dadurch verändert, dass es gewisse gerinnungshemmende Momente, welche eben den einen dieser Theile in Lösung zurückhalten, aufhebt, wodurch der unlösliche, als Faserstoff sich ausscheidende Antheil vergrössert wird.[1]) Wir haben uns also nach den Lösungsmitteln für den kolloidalen Faserstoff umzusehen; es sind eben dieselben, welche auch die Auflösung der Globuline bewirken, — nur dass ihre Lösungskraft für den kolloidalen Faserstoff mit seiner fortschreitenden Entwickelung stetig abnimmt — es sind also zunächst die in den Gerinnungsflüssigkeiten enthaltenen Alkalien und Salze. Hammarsten, der die Frage nach der Art der gerinnungshemmenden Momente für eine im ganzen noch offene ansieht, hält es indess für zweifellos,

[1]) Pfl. Arch. Bd. VI, p. 426—430. Beiträge zur Anat. und Physiologie, C. Ludwig gewidmet, p. 96—99.

dass der Gehalt an Alkali und Salzen hierbei eine Rolle spiele. Als globulinlösende Mittel habe ich ferner noch gewisse im Blutserum enthaltene und auf dem Wege der fraktionierten Dialyse daraus zu gewinnende Atomcomplexe nachgewiesen; ob diese auch den kolloidalen Faserstoff zu lösen vermögen, weiss ich nicht, halte es aber für sehr wahrscheinlich.[1]) Ich will die Beziehungen dieser drei Lösungsmittel zur Faserstoffgerinnung bei jedem einzeln besprechen.

Das Paraglobulin soll also die Menge des ausgeschiedenen Faserstoffs dadurch vergrössern können, dass es, indem es die Neutralsalze in Beschlag nimmt, ihre Lösungskraft für den kolloidalen Faserstoff beschränkt oder ganz aufhebt. Wie wäre aber diese Vorstellung mit den sonst über die Wirkung dieser Salze ermittelten Thatsachen in Einklang zu bringen. Es müsste ja dann nach gänzlichem Fortschaffen derselben die Faserstoffausbeute am grössten sein, eine ihres Salzgehalts beraubte Gerinnungsflüssigkeit gerinnt aber gar nicht. Ein gewisser Salzgehalt ist ja grade eine nothwendige Gerinnungsbedingung. Ferner musste jeder, auch der kleinste Salzzusatz immer nur in einer Richtung, d. h. fibrinvermindernd, wirken, wir haben aber gesehen, dass oft der entgegengesetzte Erfolg eintritt; ein Paraglobulinzusatz wirkt aber immer fibrinvermehrend und diese Wirkung wird durch einen darauffolgenden passenden Salzzusatz nicht herabgesetzt, sondern im Gegentheil gesteigert. Demnach können wir die Neutralsalze, wie mir scheint, unmöglich zu denjenigen gerinnungshemmenden Momenten zählen, durch deren „Aufhebung" das Paraglobulin die Menge des zur Ausscheidung gelangenden Faserstoffs vergrössert.

Die alkalisch reagierenden Mineralbestandtheile der gerinnbaren Körperflüssigkeiten habe ich stets als schwache natürliche Gerinnungshindernisse bezeichnet. In dem ersten Theil dieser Unter-

[1]) Pfl. Arch. Bd. VI, p. 426—430. Beiträge zur Anat. und Physiologie, C. Ludwig gewidmet, p. 96—99.

suchungen habe ich weiter ausgeführt, dass sie, indem sie die der Thrombinentwickelung zu Grunde liegenden Spaltungsvorgänge steigern, zwar die Gerinnung des Blutplasma begünstigen, dass diese Wirkung aber dadurch, dass sie die Coagulierung des kolloidalen Faserstoffs und wohl auch seine Bildung erschweren, compensiert oder sogar übercompensiert wird.[1]) Deshalb wird man die Gerinnungszeit des Blutplasmas durch Neutralisieren wohl immer etwas abkürzen, aber ich habe nicht constatieren können, dass die Fibrinziffer dadurch merklich erhöht würde; dazu sind die hemmenden Kräfte der Blutalkalien gegenüber den grossen im Plasma sich entwickelnden Thrombinmengen und gegenüber den coagulierenden Kräften der Neutralsalze doch zu gering. Nur in den verglichen mit dem Blutplasma sehr geringe Faserstoffmengen liefernden Transsudaten habe ich durch Neutralisieren einen ganz unbedeutenden relativen Fibrinzuwachs erzielt.

Nun ist aber doch klar, dass, wenn das Paraglobulin dadurch fibrinvermehrend wirkte, dass es die alkalisch reagierenden Bestandtheile der Gerinnungsflüssigkeiten für seine eigene Auflösung in Anspruch nimmt und sie dadurch der Möglichkeit beraubt, einen Theil des kolloidalen Faserstoffs in Lösung zu erhalten, die grösste Faserstoffzunahme durch Neutralisieren der Flüssigkeit mittelst einer Säure erzielt werden müsste, eine grössere jedenfalls als durch einen Paraglobulinzusatz, der nicht gross genug ist, ihre Alkalescenz ganz zu beseitigen. Grade das Umgekehrte ist aber der Fall. Ja es fällt sogar schwer, die Alkalescenz der natürlichen Gerinnungsflüssigkeiten durch einen Paraglobulinzusatz ganz zu beseitigen, denn wenn das Paraglobulin Alkalien gegenüber sich auch wie eine schwache Säure verhält, so ist es eben eine äusserst schwache Säure; und die grössten Mengen dieser Substanz, die ich in meinen Versuchen den betreffenden Flüssigkeiten zuzusetzen wagte, mit welchen ich dann auch die grössten Faser-

[1]) „Zur Blutlehre" p. 207.

stoffzunahmen erzielte, reichten immer noch bei weitem nicht hin, die Alkalescenz der betreffenden Flüssigkeiten abzustumpfen.

Ferner kann Hammarsten's Erklärung der Wirkung des Paraglobulins doch nur für den Fall gelten, dass man dasselbe in Substanz, als Brei in der Flüssigkeit auflöst. Wenn man aber die gleiche Menge Paraglobulin in gesättigter alkalischer Lösung (natürlich in möglichst concentrierter, um die gleichzeitige Verdünnung zu vermeiden) anwendet, so erreicht man dasselbe wie mit dem Zusatz in breiiger Gestalt. Hier kann aber doch von einer Alkalientziehung nicht die Rede sein, denn das Paraglobulin führt ja sein Lösungsmittel mit sich.

Wenn das Paraglobulin durch Alkalientziehung die Menge des ausgeschiedenen Fibrins vergrösserte, so müsste derselbe Erfolg auch durch Auflösen von Alkalialbuminat in den natürlichen Gerinnungsflüssigkeeiten erreicht werden können. Das aus dem Serum- oder Eialbumin gewonnene Albuminat ist aber verglichen mit dem Paraglobulin ein in Alkalien und Säuren schwerlöslicher Körper. Bringt man dasselbe in Substanz in Blutplasma, so löst sich so gut wie gar nichts darin auf; sucht man nun die Auflösung durch Zusatz von verdünnter Natronlösung zu bewirken, so bedarf es solcher Mengen derselben, dass vollständige Gerinnungshemmung eintritt. Ein vergleichsweise sehr leicht in Alkalien und Säuren lösliches Albuminat erhält man aber aus dem Paraglobulin selbst, wenn man nicht mehr Alkali der betreffenden Lösung zusetzt, als zur Albuminatbildung nöthig ist, und das ist verglichen mit dem Albumin sehr wenig. Von diesem Paraglobulinalbuminat (vielleicht besser Paraglobulinat), welches natürlich in Neutralsalzen ebenso unlöslich ist, wie das Albuminalbuminat, lösen sich beträchtliche Mengen in Blutplasma auf, aber eine Faserstoffzunahme wird dadurch, wie ich schon früher gezeigt habe, nicht herbeigeführt.[1])

[1]) Pfl. Arch. Bd. XIII. p. 171. In Betreff der Darstellung des löslichen Paraglobubinats, s. Kieseritzky a. a. O. p. 83, 84.

In Hinsicht auf meine Behauptung, dass die in den Transsudaten durch Neutralisieren herbeizuführenden Fibrinvermehrungen sehr unbedeutend sind verglichen mit denjenigen, welche man durch einen Paraglobulinzusatz erzielt, selbst wenn die Reaktion der Flüssigkeit dabei alkalisch bleibt, verweise ich auf meine bezüglichen früheren Versuche.[1])

Es bleiben uns jetzt mit Bezug auf die von Hammarsten versuchte Erklärung der Paraglobulinwirkung bei der Faserstoffgerinnung nur noch die von mir im Blutserum nachgewiesenen organischen, bei der Dialyse in das Diffusat übergehenden organischen Atomcomplexe übrig. Dass sie paraglobulinlösende Stoffe sind, ist unzweifelhaft; es liegen aber bis jetzt keine Versuche darüber vor, ob in der vorliegenden Frage eine Berufung auf sie im Sinne Hammarsten's berechtigt ist oder nicht und ich halte solche Versuche auch für sehr schwierig auszuführen. Durch Dialyse kann man sie allerdings vom Serum trennen, aber sie diffundieren viel langsamer als die Mineralbestandtheile und es bedarf daher mehrerer Tage, um sie auf diesem Wege annähernd vollständig zu entfernen. Das Blutplasma kann man aber der Dialyse nur in gerinnungsunfähigem Zustande aussetzen, also am besten als Oxalatplasma. Man könnte nun, indem man diese Stoffe dessen beschuldigt einen Theil des kolloidalen Faserstoffs in Lösung zu erhalten und auf diesen Umstand die fibrinvermehrende Wirkung des Paraglobulins bezieht, meinen, dass das Oxalatplasma nach mehrtägiger Dialyse, wenn man die mittlerweile ausgeschiedenen Globuline durch die nöthige Menge Alkali aufgelöst und den Verlust an löslichen Salzen ersetzt hat, mehr Faserstoff liefern müsste, als eine andere Probe derselben Flüssigkeit, deren Gerinnung man einfach durch einen $CaCl_2$-Zusatz wieder hervorgerufen hat. Der Versuch wird aber dadurch illusorisch, dass man bei der Dialyse Verluste an Globulinsubstanzen, wie ich bereits angegeben habe,

[1]) Pfl. Arch. Bd. XI, p. 321, Vers. I, ferner Bd. XIII, p. 162.

erleidet, die einen bedeutenden Fibrindefekt veranlassen. Wollte man es mit einer, kürzere Zeit, etwa 10—12 Stunden dauernden Dialyse darauf hin wagen, dass dabei doch immer ein Theil jener Plasmabestandtheile entfernt wird, so ist derselbe doch sehr unbedeutend, während der Fibrindefekt schon ein recht beträchtlicher ist.

Es lässt sich also bis jetzt über die Rolle, welche die in Rede stehenden paraglobulinlösenden Plasmabestandtheile bei der Faserstoffgerinnung spielen, gar nichts sagen. Wollte nun aber jemand daraufhin behaupten, dass in ihnen die „gerinnungshemmenden Momente" gegeben seien, durch deren Inbeschlagnahme das Paraglobulin fibrinvermehrend wirkt, so lässt sich darauf erwidern, dass damit eine neue Hypothese, eine Hülfshypothese in die Welt gesetzt wird, die nur aus einer anderen Hypothese, der Hauptthypothese fliesst, zu deren Unterstützung sie dienen soll, und die zugleich unwahrscheinlich ist, weil durch sie ein und derselben Kraft, nämlich der globulinlösenden, verschiedene Effekte bei einem und demselben Process, nämlich der Faserstoffgerinnung, zugeschrieben wird.

Arthus sagt auf p. 67 seiner Abhandlung über die Faserstoffgerinnung: „C'est en entraînant des composés calciques que la substance fibrinoplastique (es ist das Paraglobulin gemeint S.) joue un rôle fibrinoplastique."[1]) Da auch er das Thrombin als faserstoffbildendes Ferment anerkennt, so ist unter rôle fibrinoplastique offenbar die fibrinvermehrende Wirksamkeit des Paraglobulins zu verstehen. Da aber das entkalkte Blut gerinnungsfähig bleibt, so ist es wohl höchst unwahrscheinlich, dass eine unter Umständen eintretende Zunahme der ausgeschiedenen Faserstoffmenge durch die von Paraglobulin eingeschlossenen Kalkver-

---

[1]) Recherches sur la coagulatien du sang. Thèses presentées à la faculté des sciences de Paris. 1890.

bindungen, deren Menge ausserdem, bei gründlicher Reinigung der Substanz äusserst gering ist, verursacht sein sollte. Ich habe schon früher kurz erwähnt, dass ich mit entkalktem Paraglobulin in filtriertem Plasma denselben Effekt in Betreff des Faserstoffs hervorgebracht habe, wie mit dem gewöhnlichen, kalkhaltigen. Auch über die Methode der Entkalkung des Paraglobulins ist dort schon das Nöthige gesagt worden; ich füge hier nur noch hinzu, dass ich zur Entfernung des durch Kaliumoxalat erzeugten Kalkoxalates das verdünnte Serum vor der Fällung durch Ansäuern anhaltend centrifugierte, dann die Flüssigkeit vom Niederschlag abhob und durch ein doppeltes Filtrum filtrierte. Im Filtrat fand dann die Fällung des Paraglobulins statt. Das Filtrieren wiederholte ich noch ein oder zwei mal nach stattgehabtem Wiederauflösen der mehrfach gefällten Substanz; ebenso verfuhr ich, wenn ich das Kaliumoxalat nicht dem Serum selbst, sondern der aus ihm bereits hergestellten wässerig-salzigen Paraglobulinlösung hinzugefügt hatte. Diese Operationen fanden statt mit Rücksicht auf die Möglichkeit des Einwands, dass eine durch das entkalkte Paraglobulin etwa herbeigeführte Gewichtszunahme auf eingeschlossene Kalkoxalatkrystalle zu beziehen sei, und ich kann annehmen, dass ich diesen Zweck genügend erreicht habe, da ich in einer in wenig Wasser mit Hülfe von etwas NaO gelösten Probe des gereinigten Paraglobulinniederschlags mikroskopisch auch nicht einen einzigen Krystall von oxalsaurem Kalk auffinden konnte. Ich lasse nun die Versuchsergebnisse folgen; das Paraglobulin wurde als Brei ungemessen zum filtrierten Plasma hinzugefügt, im ersten Versuch jedoch bedeutend weniger, als in den beiden folgenden.

Versuch 1.

	Fibrin %
Normalprobe	0,668
Mit entkalktem Paraglobulin	0,696

Versuch 2.

	Fibrin %
Normalprobe	0,447
Mit entkalktem Paraglobulin	0,762

Versuch 3.

	Fibrin %
Normalprobe	0,534
Mit entkalktem Paraglobulin	0,930

Ich glaube, diese Zahlen sprechen deutlich genug.

Die Angabe von Arthus, dass das durch Kaliumoxalat flüssig erhaltene Blut nach Hinzufügung von etwas (un peu) salziger Paraglobulinlösung merkbar weniger $CaCl_2$ zur Herbeiführung der Gerinnung bedurfte, als es unter gewöhnlichen Umständen der Fall ist, lässt sich wohl nur zum geringsten Theil durch die Berufung auf die vom Paraglobulin in minimalen Mengen eingeschlossenen Kalkverbindungen erklären; von viel grösserer Bedeutung scheint mir in dieser Hinsicht das vom Paraglobulin eingeschlossene Ferment zu sein. Wir haben ja gesehen, dass man mit grösseren Thrombinmengen die Gerinnung des Oxalatplasmas auch ganz ohne $CaCl_2$-Zusatz herbeiführen kann.

Vor längerer Zeit machte Hammarsten die Entdeckung, dass gereinigtes Caseïn, wenn es in alkalischer Lösung mit stark verdünntem, durch Kohlensäure vom Paraglobulin befreitem Blutserum vermischt wird, insofern dem Paraglobulin ähnlich wird, als es in Berührung mit den Serumbestandtheilen die Eigenschaft der Löslichkeit in Kochsalz annimmt. Dass das Caseïn diese Eigenschaft, wie auch Hammarsten annimmt, gewissen Einschlüssen verdankt, die es beim Fällen mittelst Ansäuern aus dem verdünnten Serum mitniederreisst, ist wohl sicher, da es sie schon beim Auswaschen auf dem Filtrum verliert. Gegen Hammarsten's Angabe, dass das paraglobulinähnlich gewordene Caseïn ebenso wie das Paraglobulin selbst fibrinvermehrend wirke, erhob ich Ein-

spruch, indem ich zeigte, dass dieser Erfolg nur durch Verunreinigung des Caseïns mit dem zugleich mit ihm aus dem verdünnten Blutserum gefällten Paraglobulin bedingt sei, und dass er niemals eintrete, wenn man das Blutserum (oder die verdünnte Eiweisslösung, welche in derselben Weise auf das Caseïn wirkt) vor dem Zusatz der Caseïnlösung mit möglichster Sorgfalt seines ganzen Paraglobulingehalts beraubt.[1]) Trotzdem nun Hammarsten meines Wissens später auf diese Frage nicht mehr zurückkommt, nimmt Arthus die fibrinvermehrende Wirksamkeit des in Salzen löslich gewordenen Caseïns doch als eine feststehende Thatsache an und erklärt sie von seinem Standpunkt aus als durch die Kalkverbindungen verursacht, welche das Caseïn beim Fällen aus dem verdünnten Serum mitniedergerissen habe.[2]) Ich brauche mich demgegenüber, abgesehen von den Versuchsergebnissen, welche mir meine Stellung zur Frage der Bedeutung des Kalks für die Faserstoffgerinnung im Allgemeinen vorschreiben, nur auf die so eben erwähnten Versuche zu beziehen, in welchen das entkalkte echte Paraglobulin einen Fibrinzuwachs bewirkte, während meine älteren Versuche, welche zeigten, dass das paraglobulinähnlich gewordene Caseïn, welches sicherlich Kalkverbindungen einschloss, in dieser Hinsicht durchaus unwirksam ist, bis jetzt noch nicht widerlegt worden sind.

Da das Caseïn offenbar dem Protoplasma der Milchdrüsenzellen entstammt und in seinen Eigenschaften manche Aehnlichkeit mit dem Präglobulin zeigt, so scheint mir kein prinzipieller Grund der Möglichkeit einer in Berührung mit Blutserum oder Blutplasma stattfindenden Umwandlung in wirkliches Paraglobulin entgegenzustehen. Ich liess es daher bei meinen früheren Versuchen nicht bewenden, sondern wiederholte sie in etwas anderer Weise, indem ich von dem Gedanken ausging, dass, wenn in dieser

[1]) Pfl. Arch. Bd. XIII, p. 164—169.

[2]) A. a. O. p. 68, 69.

Hinsicht eine Uebereinstimmung mit dem Präglobulin vorhanden ist, es zur Herbeiführung einer Fibrinvermehrung genügen müsste eine Quantität des nach Hammarsten's Angaben gereinigten Caseïns in filtriertem Plasma aufzulösen und dann die Gerinnung abzuwarten, resp. wenn nöthig, sie durch einen Zusatz von zymoplastischen Substanzen hervorzurufen. In dieser Weise bin ich ja auch mit dem Cytoglobin und dem Paraglobulin mit gutem Erfolge verfahren. Ich habe drei solche Versuche angestellt, deren Resultat aber dem erwarteten entgegengesetzt war. Es waren nämlich zur Auflösung des Caseïns so grosse Mengen Natron nöthig, dass die Gerinnung nur nach Zusatz von entsprechend grossen Mengen der zymoplastischen Substanzen eintrat: das Faserstoffprocent aber zeigte eine Abnahme in minimo von 9,1 % in maximo von 14,6 %. Diesen Erfolg zu erklären, genügt der Hinweis auf die grossen Mengen Natron, die vielleicht sogar einen Theil des Blutglobulins in Globulinat verwandelt hatten. Die äussere Aehnlichkeit des Caseïns mit dem Präglobulin macht es eben nicht. Das Caseïn zeigt auch gewisse Aehnlichkeiten mit dem Alkalialbuminat und doch wird eine gesättigte Lösung desselben nie durch Labferment coaguliert, sondern wie Kieseritzky gezeigt hat, nur durch einen passenden Salzzusatz.[1])

Man könnte nun vielleicht einwenden, dass es, da das Caseïn zwar dem Präglobulin verwandt, aber mit ihm doch nicht identisch sei, nöthig gewesen wäre, die die Umwandlung herbeiführenden Kräfte der Blutflüssigkeit eine längere Zeit, als es beim Gerinnungsversuch mit filtriertem Plasma der Fall war, auf dasselbe einwirken zu lassen und dann erst die bezüglichen Gerinnungsversuche anzustellen. Diese Aufgabe aber habe ich indess schon mit meinen älteren Versuchen erfüllt, denn das Caseïn hatte ja hier durch die dem Gerinnungsversuche vorausgehende Auflösung in verdünntem Blutserum die Eigenschaft der Löslichkeit in Kochsalz bereits er-

[1]) A. a. O. p. 73 ff.

halten. Zu einer Wiederholung derselben bin ich nicht gekommen. Ich constatiere hier nur, dass dialysiertes Serum dieselbe Veränderung der Löslichkeitsverhältnisse des Caseïns bewirkt, wie verdünntes.

Ich glaube mit Vorstehendem den Beweis geliefert zu haben, dass alles Bemühen, die Mitwirkung des Paraglobulins bei der Faserstoffgerinnung anders zu erklären, als durch die Annahme eines inneren, wesentlichen Zusammenhanges zwischen dem Paraglobulin- und dem Fibrinmolekül zu keinem befriedigenden Ergebniss geführt hat. Zwar behaupte ich nicht mehr, dass das Paraglobulin die Bedeutung eines neben der fibrinogenen Substanz bestehenden zweiten nothwendigen Substrats der Faserstoffbildung hat, welches auch neben ihr entweder als solches oder durch eines seiner Spaltungsprodukte direkt in die Substanz des Faserstoffs übergeht, wohl aber nehme ich ein Nacheinander, ein Hervorgehen des einen Substrats aus dem anderen an, ein Verhältniss, welches sich dann auch im künstlichen, unter Paraglobulinzusatz angestellten Gerinnungsversuch verwirklicht. Zu dieser Vorstellung einer mit den eiweisslieferndeu Bestandtheilen des Protoplasmas beginnenden und mit dem Faserstoff endenden Kette, in welcher das Paraglobulin das der fibrinogenen Substanz vorangehende Glied darstellt, haben mich die bereits veröffentlichten Ergebnisse meiner Versuche gedrängt, vor Allem die Thatsache, dass ebenso wie das Paraglobulin auch gewisse Protoplasmabestandtheile in hohem Grade fibrinvermehrend wirken, ferner die Leichtigkeit, mit welcher man die Glieder dieser Kette, mit dem unlöslichen Grundstoff des Protoplasmas beginnend, succesiv aus einander hervorgehen lassen kann und schliesslich die Möglichkeit mit Hülfe von Blutserum sowohl, als von proplastischen Transsudaten aus ihnen eine Substanz zu erzeugen, welche auch darin mit dem in der Blutflüssigkeit präformierten Paraglobulin übereinstimmt, dass sie wie dieses das Fibrinprocent erhöht.

Von diesem Standpunkt aus betrachtet, gewinnt das Paraglobulin nicht blos in Bezug auf die Frage der Entstehung der fibrinogenen Substanz im Kreislauf an Interesse, sondern auch im Hinblick auf die Faserstoffgerinnung. Alle spontan gerinnenden Körperflüssigkeiten, Blut, Chylus, Lymphe, Transsudate enthalten mehr oder weniger Paraglobulin; eine Ausnahme hiervon machen nach meinen Erfahrungen nur die der spontanen Gerinnung unfähigen proplastischen Transsudate, wobei ich für's erste die Hydroceleflüssigkeit aus Mangel an Erfahrung unberücksichtigt lasse.

Als denjenigen Faktor, welcher aus dem Paraglobulin die fibrinogene Substanz hervorgehen lässt, habe ich in meiner jüngsten Publikation das Thrombin bezeichnet, so dass dieses Ferment also zwei Glieder der Kette, die fibrinogene Substanz und den kolloidalen Faserstoff erzeugt, ein Verhältniss, welches übrigens anderswo auch vorkommt, z. B. bei der fermentativen Zuckerbildung aus Amylum.[1])

Aber ich habe dort auch zugleich betont, dass die fermentative Entstehung der fibrinogenen Substanz aus dem Paraglobulin nur im Blutplasma, in den spontan gerinnenden Transsudaten und in solchen proplastischen Transsudaten gelingt, welchen man durch einen Zusatz von Blutserum oder von Thrombinlösung die Tendenz zu gerinnen ertheilt hat, kurz in Flüssigkeiten, welche bereits in der Gerinnung begriffen sind. Das Thrombin an und für sich macht es also nicht, wie man es an dem Blutserum sieht.

Wodurch unterscheidet sich nun aber eine solche in der Gerinnung begriffene Flüssigkeit von dem Blutserum? Doch einzig und allein nur durch ihren Gehalt an fibrinogener Substanz; denn die übrigen für das Zustandekommen des ganzen Gerinnungsakts nothwendig erforderlichen Faktoren, das Thrombin, das Prothrombin,

---

1) „Zur Blutlehre", p. 192—194, 198.

die zymoplastischen Substanzen sind ja alle neben dem Paraglobulin auch im Blutserum enthalten und doch findet die Ueberführung des letzteren in fibrinogene Substanz hier nicht statt. Wir würden also zu schliessen haben, dass dazu vor Allem die Gegenwart der in den gerinnbaren Körperflüssigkeiten präformiert enthaltenen fibrinogenen Substanz erforderlich ist. Hieraus würde sich zugleich erklären, warum in meinen früheren Versuchen die Umwandlung des in dialysierten proplastischen Transsudaten ungelösten Cytoglobins oder Präglobulins nur bis zur Präglobulinstufe vor sich ging, obgleich die ersteren doch offenbar dem Blutplasma sehr nahe stehen, denn diese Flüssigkeiten waren eben nach beendeter Dialyse der dabei ausgeschiedenen fibrinogenen Substanz aus technischen Gründen durch Filtrieren beraubt worden.

Aber die fibrinogene Substanz an und für sich macht es doch auch nicht; denn die aus der Zunahme der Faserstoffmenge erschlossene in Rede stehende Umwandlung des Paraglobulins findet nur in gerinnenden Flüssigkeiten statt; somit erweist sich auch das Ferment als ein die Entstehung der fibrinogenen Substanz aus Paraglobulin nothwendig bedingender Faktor.

Anders ausgedrückt, nicht die in Ruhe bestehende, sondern die in chemischer Bewegung sich befindende, in der Umsetzung zu kolloidalem Faserstoff begriffene fibrinogene Substanz reisst das Paraglobulin mit in die Bewegung hinein, wobei das letztere wohl nicht direkt, sondern erst nach stattgehabter Umsetzung in fibrinogene Substanz in kolloidalen Faserstoff übergeführt wird.

Ich will hier ein Beispiel für ein solches Verhältniss anführen, das ich vor Jahren schon ein mal benutzt habe, das aber zu meiner jetzigen, wie ich hoffe vervollkommneten Auffassung der Faserstoffgerinnung viel besser passt, als es bei der damaligen der Fall war. Ich citiere die betreffende Stelle aus der älteren Arbeit wörtlich, wobei ich nur die Bezeichnung „fibrinoplastische Substanz“ vermeide, um dafür Paraglobulin zu sagen.[1])

[1]) Pfl. Arch. Bd. XIII. p. 143.

„Dextrin in Berührung mit Hefe geht nicht in Gährung über, so wenig wie das Paraglobulin in Berührung mit dem Fibrinferment gerinnt. Ist aber Zucker in der Maische zugegen, so zersetzt sich auch ein grosser Theil des Dextrins ganz wie der Zucker in Alkohol und Kohlensäure. In einer Maische, in welcher durch Diastas nach Liebig im besten Falle nur die Hälfte der dem Stärkemehl entsprechenden Zuckermenge gebildet wird, erzeugte Hefe 60,8 % Alkohol mehr als dem Zuckergehalt der Asche entsprach.[1]) Liebig erklärt dieses aus dem Einfluss der durch die Hefe in Bewegung gerathenen Zuckeratome auf das Dextrin, durch welchen das letztere, ehe es in Alkohol und Kohlensäure zerfiel, in Zucker übergeführt wurde."

Dieses Beispiel passt auch insofern auf unseren Fall, als Paraglobulin und fibrinogene Substanz chemisch einander nahe verwandte, offenbar aus einer gemeinschaftlichen Quelle, nämlich aus den eiweissliefernden Protoplasmabestandtheilen hervorgehende Körper sind, ganz wie Dextrin und Zucker.

Es erübrigt nur noch, die fibrinogene Substanz aus dem Paraglobulin nicht blos als intermediäres Produkt zu gewinnen, sondern wie das Dextrin als einen Körper von unveränderlichem Bestande. Diese Forderung wird, wie ich hoffe, erfüllbar sein.

---

1) Liebig. Ueber Gährung, über Quelle der Muskelkraft und Ernährung. Separatabdruck aus den Annalen der Chemie und Pharmacie, p. 58.

Fünftes Kapitel.

Zur Kenntniss des Protoplasmas und seiner Derivate.

Wenn vor wenigen Decennien auf die Frage: worin besteht die Faserstoffgerinnung? jemand erwidert hätte: sie besteht in der durch ein specifisches Ferment bewirkten Umwandlung einer nachweislich in der Blutflüssigkeit enthaltenen besonderen Eiweisssubstanz in einen Körper von kolloidalen Eigenschaften, welcher durch die Blutsalze in die unlösliche Modifikation übergeführt wird, so hätte man, die Stichhaltigkeit der Beweisgründe vorausgesetzt, anerkennen müssen, dass diese wenigen Worte eine vollständige Beantwortung der Frage enthielten — aber doch nur soweit als man damals zu fragen verstand, als der Sinn reichte, den der Fragende in seine Frage legte und legen konnte. Keine Beantwortung einer wissenschaftlichen Frage schliesst sie aber ganz ab und schafft sie damit aus der Welt, weil die Antwort stets neue und oft noch schwierigere Fragen in die Welt setzt. So habe auch ich mich durch die Summe von Beobachtungen und Erfahrungen, deren Endergebniss ich in den obigen Worten zusammengefasst habe, gedrängt gefunden weiter zu gehen; denn es erhob sich nun die Frage nach dem Ursprung des Ferments, nach seinem Mutterstoff, nach den Bedingungen seines Entstehens, den Kräften, welche ihn freimachen und den inneren oder äusseren Einwirkungen, welche seine Entstehung günstig oder ungünstig beeinflussen, ferner ebenso nach Herkunft und Bedeutung jener Eiweisssubstanz, aus welcher der Faserstoff entsteht u. s. w. Und jetzt stehe ich vor

einer Frage, die mir die grösste, tiefste und wichtigste zu sein scheint, wichtiger vor allem als in der ganzen Reihe von Fragen die allererste, die nach der Faserstoffgerinnung selbst.

Denn in der That stellt sich doch die nur unter anormalen Umständen auftretende Faserstoffgerinnung, wie ich schon gesagt habe, als eine zufällige und nebensächliche Funktion des Blutes, als der Effekt von Kräften dar, die im Organismus offenbar ganz andere Dinge zu leisten haben, man kann in gewissem Sinne sagen, als etwas widernatürliches, weil der lebende Organismus sie nicht zu stande kommen lässt. Nur in gewissen, vom Gesammtleben des Organismus sich ablösenden Körperflüssigkeiten erscheint sie, innerhalb wie ausserhalb desselben. Sie ist das beim Wegfall der regulierenden Kräfte des Organismus durch andere Kräfte zu einem unförmlichen Klumpen zusammengeschmolzene Endglied einer Funktionskette, das aber allein aus dem inneren Getriebe nach aussen hervorragt, und das wir deshalb anfassen müssen, um vorsichtig mit dem Finger tastend Glied um Glied weiterzukommen.

Und vor welchen Kräften stehen wir jetzt? Wir sind jener Kette nachgehend bis zum Protoplasma gelangt und finden, dass dasselbe in Hinsicht auf die Faserstoffgerinnung zwei einander entgegengesetzte Kräfte entwickelt, ja man kann vielleicht sagen, dass das ganze Protoplasma in dieser Beziehung in zwei Gruppen von Bestandtheilen zerfällt, von welchen die eine die Tendenz hat, die Gerinnung herbeizuführen, die andere aber die, ihr zu wehren. Was hat nun dieser im Protoplasma selbst begründete Kräftegegensatz im lebenden Organismus zu bedeuten? er ist doch gewiss nicht umsonst oder zufällig da, so wenig wie die Kräfte selbst, die ihn darstellen. Ich habe versucht, mir darüber einige Vorstellungen zu bilden und dieselben im ersten Theil dieser Arbeit[1]) in unmassgeblicher Weise entwickelt, aber auf sicherem, beweiskräftigem Boden stehe ich noch nicht und ich bin überzeugt, dass

[1]) Zur Blutlehre. Leipzig 1892.

das Schiff der Physiologie noch viel in der pfadlosen See herumzusteuern haben wird, ehe es auf dieses Stück festen Landes stösst. Ich selbst werde es nicht erreichen, aber auch einige kleinere Erkenntnisse können dazu dienen, das Steuer besser und zweckentsprechender zu richten. Das, was ich in diesem Kapitel zu berichten habe, sollen daher nur fragmentarische und auf jene Hauptfrage zunächst nicht Bezug nehmende Beiträge zur Kenntniss des Protoplasmas und seiner Derivate sein.

Ich habe mich zunächst bemüht, das Cytoglobin aus den Lymphdrüsen, seiner ergiebigsten Quelle, in noch reinerer Gestalt als bisher und zugleich durch ein vereinfachtes Verfahren zu gewinnen. Zwei aufeinanderfolgende, zu meiner früheren Darstellungsmethode gehörige Operationen lasse ich jetzt ganz ausfallen: das Auspressen und das Centrifugieren des aus der Muskelpresse fliessenden Saftes behufs Trennung der Zellen von der Flüssigkeit. Letztere wurde früher verworfen; hierbei erleidet man aber Verluste, denn sie ist immer noch recht zellenreich und enthält auch freies Cytoglobin, ob präformiert oder in Folge der Zerstörung eines Theils der Zellen durch die Presse, lasse ich dahingestellt sein. Schlimmer aber ist, dass durch den gewaltigen Druck der Presse irgend etwas aus dem Parenchym der Drüse in den ausfliessenden Saft hineingetrieben wird, was trotz des Centrifugierens am Zellenniederschlag haften bleibt, sich auch durch die nun folgende langdauernde Behandlung mit Alkohol nicht oder doch nicht ganz von ihm trennen lässt und das schliesslich gewonnene Cytoglobin verunreinigt, so dass nur sehr verdünnte Lösungen desselben klar erscheinen, Lösungen von 1—2 % Gehalt aber nicht selten sehr trüb und zugleich schwer filtrierbar sind, was unter anderen z. B. die Bestimmung der specifischen Drehung dieser Substanz sehr erschwert. Diesen offenbar in sehr wechselnden Mengen auftretenden Verunreinigungen schreibe ich auch einen anderen Unfall zu, der mir beim früheren Verfahren ein paar mal zugestossen ist und zwar während des nicht zu umgehenden Ein-

engens der aus den Zellen gewonnenen wässerigen Cytoglobinlösung im Vacuum; ein Theil des Cytoglobins unterlag hier nämlich einer Zersetzung. Es hatte sich ein mehr oder weniger bedeutender Bodensatz gebildet und die Flüssigkeit reagierte schwach sauer. Die den Bodensatz bildende Substanz erwies sich demgemäss auch als Präglobulin. Durch dieses unangenehme Zwischenvorkommniss war nun aber auch der unzersetzt gebliebene Rest des Cytoglobins ruiniert; denn wenn es auch leicht war, das Präglobulin durch Filtrieren zu entfernen, so war doch die Trennung des anderen, in Wasser löslichen Spaltungsprodukts von dem gleichfalls in Wasser löslichen Cytoglobin nicht möglich. Dass diese allerdings sehr selten vorkommende Säurebildung mit gewissen mitausgepressten und die Cytoglobinlösungen trübenden Drüsenbestandtheilen zusammenhängt, lässt sich daraus entnehmen, dass sie nur in extremen Fällen, bei von vornherein sehr starker Trübung des Wasserextrakts der mit Alkohol erschöpften Zellen auftrat, während sie sich nicht mehr eingestellt hat, seit ich die Presse vermeide und deshalb die aus den Zellen durch Extrahieren mit Wasser erhaltenen Cytoglobinlösungen unvergleichlich klarer sind.

Ich verfahre jetzt folgendermassen: die vom anhängenden Fettgewebe befreiten Lymphdrüsen werden in der Fleischhackmaschine möglichst fein zerkleinert und der Brei dann ohne weiteres in das 12—15 fache Volum starken Alkohols gestürzt, in welchem er täglich mehrmals durch Schütteln oder Umrühren vertheilt wird. Alle drei Tage wird der Alkohol erneuert, im ganzen dreimal; die Extraktion mit Alkohol dauert also 12 Tage. Den ersten alkoholischen Auszug, der sehr reich an zymoplastischen Substanzen ist, bewahre ich, nachdem er auf ein viel kleineres Volum eingedampft worden, auf; allenfalls lohnt sich dies noch beim zweiten Auszug; beim dritten und vierten aber ist die Ausbeute an zymoplastischen Substanzen so gering, dass man besser thut, den Alkohol zu anderen Zwecken zu verwerthen. Nach beendeter letzter Extraktion mit Alkohol wird filtriert, die grobe, graue Masse auf dem Filtrum

noch einigemal mit absolutem Alkohol, dann mit Aether ausgewaschen, vom flach ausgebreitetem Filtrum als ein halbtrockener, leicht zerfallender Klumpen abgelöst, zerbröckelt und nach stattgehabter Verdunstung des Aethers an der Luft (wozu ich gewöhnlich 24 Stunden Zeit gebe) 8—10 Tage lang über $CaCl_2$ getrocknet. Hierauf werden 5—6 gr. der trocknen Masse mit 75—80 Ccm. Wasser leicht verrieben und 24 Stunden lose bedeckt bei Zimmertemperatur stehen gelassen; dann wird durch ein Leintuch filtriert. Hierbei wird nun aber ein grosser Theil der Flüssigkeit von der aufgequollenen Masse zurückgehalten, man hüte sich aber davor sie gewaltsam auszuringen; sowie man dies thut, so erhält man ein ganz trübes Filtrat, dessen Filtration durch Papier sehr bald in's Stocken geräth. Deshalb wende man höchstens nur einen leichten Druck mit den Händen an und übergiesse die Masse auf dem Leintuch so lange mit kleinen Mengen Wasser, bis das Volum des Filtrats gleichfalls 75 bis 80 Ccm. beträgt. Das Filtrat opalisiert gewöhnlich noch etwas, passiert aber sehr leicht ein Papierfiltrum, wodurch es vollständig geklärt wird. Das Wasserextract wird nun im Vacuum auf 10—12 Ccm. eingeengt, wobei es minder opalisierend wird, ja sogar bisweilen ganz schwach getrübt erscheint; die concentrierte Flüssigkeit wird durch ein möglichst kleines, lose bedecktes Filtrum in ihr 15faches Volum absoluten Alkohols direkt hineinfiltriert. Indem ich es nun bei starkem Verbrauch an Schwefelsäure dahin bringe, dass in 24 Stunden der gewünschte Concentrationsgrad im Vacuum erreicht wird, so dass schon am dritten Tage, vom Tage der Inarbeitnahme der mit Alkohol erschöpften und getrockneten Drüsenmasse gerechnet, die Fällung des Cytoglobins in absolutem Alkohol stattfinden kann und indem ich Tag für Tag eine neue Quantität jener Masse mit Wasser verrühre, bin ich auch in der Lage je am dritten Tage, also gleichfalls Tag für Tag, eine neue Portion der im Vacuum eingeengten Cytoglobinlösung in den Alkohol hineinfiltrieren zu lassen. So fahre ich fort, bis die letzte Portion der mit Alkohol

erschöpften Drüsenmasse verbraucht ist. Es wäre zu umständlich, an jedem vierten Tage den Cytoglobinniederschlag vom vorhergehenden Tage durch Filtrieren vom Alkohol zu trennen und dann zur Gewinnung der Trockensubstanz wie gewöhnlich weiter zu verarbeiten. Ich lasse die Niederschläge sich ansammeln, indem ich jedesmal, wenn eine neue Quantität der aus dem Vacuum kommenden Cytoglobinlösung gefällt werden soll, ihr 15faches Volum absoluten Alkohols zu dem früher vorhandenen hinzufüge. Beim Filtrieren der concentrierten Cytoglobinlösungen hält das Papier nicht unbedeutende Mengen derselben zurück; ich wasche deshalb die Filtra aus, indem ich tropfenweise Wasser vom Rande des Filtrums aus so lange zufliessen lasse, bis die in den Alkohol fallenden Tropfen keine Wolken mehr bilden. Nachdem die letzte Portion Cytoglobinlösung gefällt worden, lasse ich den angesammelten Vorrath noch ein paar Tage unter Alkohol stehen, filtriere dann, wasche die Substanz auf dem Filtrum noch drei bis vier mal mit absolutem Alkohol, dann eben so oft mit Aether aus, hebe das Filtrum aus dem Trichter heraus, lege es oben zusammen, biege den Rand um und entferne durch vorsichtigen Druck mit der Hand den Aether so viel als möglich. Wenn man gutes dickes Filtrierpapier benutzt, so ist bei einiger Vorsicht das Platzen nicht zu befürchten. Darauf wird das Cytoglobin mit dem Filtrum drei mal zwischen mehreren Lagen Fliesspapier gepresst, der fast trockene Cytoglobinkuchen vom Filtrierpapier mit einem Platinspatel abgelöst, was sehr leicht von statten geht, möglichst fein zwischen den Fingern zerkleinert, das grobe Pulver zuerst einige Stunden an der Luft, dann einige Tage über Chlorcalcium getrocknet und schliesslich im Achatmörser zu einem feinen weissen Pulver zerrieben. Die Substanz löst sich leicht in Wasser zu einer ganz klaren farblosen Flüssigkeit auf; nur wenn wenig Wasser zur Auflösung verwandt wurde, bemerkt man noch eine schwache Opalescenz, die sich gar nicht vergleichen lässt mit derjenigen,

welche in den nach meiner früheren Darstellungsmethode hergestellten concentrierteren Cytoglobinlösungen auftrat.

Ich prüfte nun noch einmal die Wirkung des Cytoglobins auf den polarisierten Lichtstrahl. Bei meinem ersten, bereits mitgetheilten Versuch opalisierte die 1,180 % Substanz enthaltende Lösung so stark, dass ich zu 12 Ccm. derselben 0,24 Ccm. Normalnatronlauge hinzusetzen musste, um sie so weit zu klären, dass die Ablesungen stattfinden konnten; und doch machten sie immer noch Mühe.[1]) Dieses Mal genügten 0,2 Ccm. Zehntelnormalnatronlösung zu 13,5 Ccm. einer Cytoglobinlösung von 1,0541 % vollkommen zur vollständigen Klärung, und die Ablesungen gingen leicht von statten. Das specifische Gewicht der Cytoglobinlösung war diesmal 1,0044; der Rotationswinkel im Mittel von 12 Ablesungen betrug 0,49598°, die Länge der Röhre war 1 Decimeter. Die specifische Drehung war demnach = + 46,85. Bei der ersten Bestimmung fand ich sie = + 46,90. Die Resultate stimmen trotz der Umstände, welche die erste Bestimmung erschwerten, gut überein.

Ich beobachtete damals, dass die Rechtsdrehung unter der Einwirkung von Natron, indem das Cytoglobin zersetzt wird und dafür das linksdrehende Präglobulin auftritt, in eine Linksdrehung übergeht. Diese Wirkung des Natrons trat auch hier ein, aber wegen seiner minimalen Menge ging die Spaltung des Cytoglobins ausserordentlich langsam vor sich, so dass die Linksdrehung noch nicht begonnen hatte, als die beginnende Zersetzung die Lösung schon so weit getrübt hatte, dass die Ablesungen unmöglich wurden. Dabei war der Verlauf der Spaltung ein eigenthümlich ungleichmässiger. Es sollten unmittelbar nach dem Natronzusatz 15 Ablesungen gemacht werden. Die Ablesungswinkel zeigten auch anfangs nur die gewöhnlichen Differenzen; plötzlich aber, von der zwölften Ablesung an, begannen sie so stark abzunehmen, dass

[1]) „Zur Blutlehre", p. 134.

die drei letzten verworfen werden mussten. Die Zahl + 46,85 für die specifische Drehung des Cytoglobins beruht also auf zwölf Ablesungen. Dies geschah am Abend. Die Röhre mit der Flüssigkeit blieb im Apparat und am folgenden Morgen war die Ablenkung = + 0,2200°, die specifische Drehung also = + 20,78°, am zweiten Morgen Ablenkung = + 0,2045°, die specifische Drehung = + 19,32 und endlich nach weiteren 24 Stunden Ablenkung = + 0,0252°, die spec. Drehung = + 2,38. Einen Tag später machte die mittlerweile eingetretene Trübung die Ablesung unmöglich. Das Natron hatte also ganz kurze Zeit das Cytoglobin unangetastet gelassen, dann begann die Spaltung, die bis zum nächsten Morgen verhältnissmässig rasch fortschritt, darauf 24 Stunden lang fast ganz in Stockung gerieth, um in den letzten 24 Stunden wieder rascher bis zum beobachteten Minimum der Rechtsdrehung fortzuschreiten.[1])

So ausserordentlich kleine Mengen von Alkalien genügen also zur Zersetzung des Cytoglobins; grössere Quantitäten derselben, die aber an und für sich immer noch sehr klein genannt werden müssen, bewirken dasselbe, was hier in nicht voll drei Tagen geschehen ist, in wenigen Minuten und noch grössere verwandeln die Rechtsdrehung sofort in eine Linksdrehung. Ebenso leicht ist es sich davon zu überzeugen, wie geringe Säuremengen hinreichen, um das Cytoglobin unter Bildung von Präglobulin vollständig zu zersetzen. Nun bedenke man, was eintreten muss, wenn man Zellen zum Zweck ihrer Analyse mit verdünnten, etwa 1 procentigen Alkali- oder Säurelösungen behandelt. An einem Beispiel ist dies leicht zu ersehen. Ich wähle dazu die Lymphdrüsenzellen, weil sie unter den bisher von mir untersuchten Zellarten sich als die cytoglobinreichsten erwiesen haben. Ich be-

---

[1]) Herrn Privatdocenten der Pharmacie Kromer, der mir bei diesen Bestimmungen mit seinem scharfen Auge zu Hülfe gekommen ist, spreche ich hiermit meinen Dank aus.

rücksichtige dabei zugleich auch das Cytin, weil von ihm durch verdünnte Alkalien Cytoglobin abgespalten wird, welches alsdann unter der weiteren Einwirkung derselben grade ebenso wie das präformierte Cytoglobin in Präglobulin und die in Wasser löslichen Spaltungsprodukte zerlegt wird.

In der ebenerwähnten zur Bestimmung der spec. Drehung des Cytoglobins benutzten Lösung war, wie leicht zu berechnen ist, das Verhältniss des trockenen Cytoglobins zum Natron = 100 : 0,56. Nun nehmen wir den Fall an, dass 100 gr. centrifugierter Lymphdrüsenzellen mit nur 100 Ccm. einer etwa 1 procentigen Natronlösung extrahiert werden. 100 gr. dieses Zellenbreies geben nach einer Bestimmung von Demme, die natürlich nur annähernd auf Allgemeingültigkeit Anspruch erheben kann, einen Rückstand von 11,5 gr., in welchem 28% Cytoglobin und 35% Cytin enthalten sind.[1]) Der Zellenbrei selbst enthält also 3,22% Cytoglobin und 4,03% Cytin. Das Verhältniss des Cytoglobins zum Natron stellt sich also hier, wie 100 : 31,06 und das des Cytins wie 100 : 24,48; die Summe beider verhält sich zum Natron wie 100 : 13,79. Und schon 0,56 gr. Natron genügen, um 100 gr. Cytoglobin, wenn auch langsam, zu zerstören.

Was das Cytin anbetrifft, so erinnere ich daran, dass es sich unter der Einwirkung einer sehr verdünnten Natriumcarbonatlösung theilweise unter Zersetzung auflöst und zwar, dass sich in der Lösung drei Stoffe von einander trennen lassen, nämlich Cytoglobin, ferner ein durch Alkohol fällbarer Stoff, also wohl ein Eiweisskörper und eine in Alkohol lösliche, gelbe organische Substanz.[2]) Ganz dieselbe Spaltung des Cytins bewirkt man auch durch eine verdünnte Natronlösung, aber sie muss eben ganz ausserordentlich stark verdünnt sein, weil sonst das vom Cytin

[1]) W. Demme. Ueber einen neuen, Eiweiss liefernden Bestandtheil des Protoplasmas. Inaug.-Abh. Dorpat 1890, p. 15, 16.

[2]) „Zur Blutlehre", p. 145, 146.

abgespaltene Cytoglobin zu rasch weiter zersetzt wird. Dass man bei Einwirkung von concentrierten Alkalilösungen auf das Cytin unter dessen Zersetzungsprodukten weder dem Cytoglobin, noch selbst dem Präglobulin mehr begegnet, ist selbstverständlich, denn beide unterliegen dabei tiefergreifenden Veränderungen und unter den Zersetzungsprodukten befindet sich schliesslich eine Substanz, welche ich zunächst nur in der Rubrik „Alkalialbuminat" unterbringen kann. Zu ganz entsprechenden Resultaten, insbesondere, was das Schwinden des Präglobulins und das Auftreten von Alkalialbuminat anbetrifft, gelangt man, wenn man das in den Zellen präformierte Cytoglobin mit concentrierten Alkalilösungen behandelt. Was dabei aus den übrigen das Cytin und das Cytoglobulin zusammensetzenden Atomcomplexen geworden ist, weiss ich nicht.

Ich habe mich bis hier nur mit den Veränderungen beschäftigt, welche durch Alkalien und Säuren in den isolierten eiweissliefernden Bestandtheilen des Protoplasmas, im Cytin und Cytoglobin herbeigeführt werden. Von Interesse war es nun zu ermitteln, was geschieht, wenn die Vollzelle mit diesen Mitteln behandelt wird und die Resultate mit den durch die Wirkung des indifferenten Wassers erzielten zu vergleichen. Die betreffenden Versuche sind fast nur mit Lymphdrüsenzellen ausgeführt worden.

Was das Wasser anbetrifft, so extrahiert es aus den Zellen ein Gemenge von Cytoglobin und zymoplastischen Substanzen, nämlich denjenigen Antheil der Alkoholextraktstoffe, welcher zugleich in Wasser löslich ist. Dies war ja der Grund, weshalb ich, um reines Cytoglobin zu gewinnen, den Zellenbrei zuerst mit Alkohol extrahierte. Aber die Gegenwart der zymoplastischen Substanzen im Wasserextrakt der Zellen ist nicht gleichgültig für das Cytoglobin, denn sie modificieren die Löslichkeitsverhältnisse desselben, sowie des aus ihm dargestellten Präglobulins. So löst sich z. B. das durch Essigsäurezersetzung des im Wasserextrakt

von Lymphdrüsenzellen enthaltenen Cytoglobins erzeugte Präglobulin in concentrierter Essigsäure wieder auf, was das aus dem reinen Cytoglobin dargestellte nicht thut. R. v. Wistinghausen fand, dass das aus dem eingeengten Wasserextrakt der Zellen mit Alkohol gefällte Cytoglobin im trockenen Zustande einen dunkelgrauen Körper darstellt, welcher, was Löslichkeit im Wasser anbetrifft, in keiner Weise dem reinen Cytoglobin gleichkam, vielmehr auch durch länger dauernde Behandlung mit Wasser nicht vollständig aufgelöst wurde.[1]) Die dunkle Farbe lässt auf das Vorhandensein von zymoplastischen Substanzen im Cytoglobin schliessen. Er verrieb nun eine Portion aus Lymphdrüsenzellen gewonnener zymoplastischer Substanzen, nachdem er den Alkohol abgedampft hatte, mit einer mässigen Menge Wasser und löste in diesem dünnen Brei eine Quantität Cytoglobin, die 3 mal kleiner war als die Menge der zymoplastischen Substanzen. Hierauf brachte er das Ganze in das zehnfache Volum absoluten Alkohols. Es entstand eine weisse Fällung, die ganz das Ansehen eines gewöhnlichen Cytoglobinniederschlages hatte; aber die betreffende, auf die bekannte Weise von Alkohol getrennte und getrocknete Substanz unterschied sich vom gewöhnlichen Cytoglobin gleichfalls durch ihre dunkle Farbe und ihre Unlöslichkeit in Wasser, ein Zustand, der aber auch hier kein dauernder war, da das Wasser schon nach 24 Stunden etwas Cytoglobin aufgelöst hatte, erkennbar an der Entstehung einer Trübung durch verdünnte Essigsäure, welche durch verdünnte Natronlauge und durch Kochsalz nicht aber durch einen Essigsäureüberschuss zum Schwinden gebracht wurde.[1]) Eine mehr als hypothetische Erklärung für diese Thatsachen vermag ich nicht zu geben; ich führe sie nur auf, um zu zeigen, dass selbst im Wasserextrakt der Zellen die Gegenwart gewisser Zellenbestandtheile das Verhalten anderer modificiert.

[1]) v. Wistinghausen. Ueber einige die Faserstoffgerinnung befördernde Substanzen. Inaug.-Abh. Dorpat 1894.

Das zu diesen Versuchen benutzte Wasserextrakt war durch 24stündige Extraktion des Lymphdrüsenzellenbreies mit dem achtfachen Volum Wasser und drauffolgendes zweimaliges Filtrieren durch ein doppeltes Filtrum gewonnen worden. Das Filtrat war aber trotzdem von durch das Filtrum getretenen Zellen etwas getrübt. Beim Eindampfen des Filtrats bleibt ein gelbbrauner klebriger Rückstand zurück, welchem man die zymoplastischen Substanzen durch eine paarmalige Extraktion mit Alkohol, am besten in der Wärme, vollständig entzieht. Jetzt bleiben nur noch die Produkte der Hitzezersetzung des Cytoglobins im Rückstand übrig; Wasser nimmt nämlich mit Leichtigkeit aus ihm eine bräunliche Substanz auf, welche identisch ist mit dem durch Erhitzen einer reinen Cytoglobinlösung neben geronnenem Eiweiss entstehenden, in Wasser löslichen Spaltungsprodukt und wie dieses gerinnungshemmend wirkt, und es bleibt schliesslich nur das geronnene, nur in heisser Natronlösung lösliche Eiweiss zurück.

Es sei nur noch bemerkt, dass das bei der Zersetzung des im Wasserextrakt der Zellen enthaltenen Cytoglobins mittelst verdünnter Essigsäure entstehende Präglobulin nicht unbedeutende Mengen von zymoplastischen Substanzen einschliesst, jedenfalls bedeutend mehr, als das aus dem concentrierten Wasserextract mittelst absolutem Alkohol gefällte Cytoglobin.

Beide Substanzgemenge unterscheiden sich ferner wesentlich von einander in Hinsicht ihrer Wirkung auf die Gerinnungsflüssigkeit, wie sich leicht am filtrierten Plasma nachweisen lässt. Ich habe nämlich schon gezeigt, dass das Cytoglobin viel energischer die Faserstoffgerinnung unterdrückt als das Präglobulin und dass deshalb die gerinnungsauslösende Kraft der zymoplastischen Substanzen dem letzteren gegenüber viel wirksamer ist, als gegenüber dem ersteren.[1]) Dies wird natürlich um so mehr der Fall sein, wenn dem Präglobulin, wie das hier der Fall ist, verhältnissmässig

[1]) „Zur Blutlehre", p. 167.

mehr zymoplastische Substanzen beigemengt sind, als dem Cytoglobin. Deshalb wird durch den Zusatz des aus dem Wasserextrakt der Zellen gewonnenen unreinen Cytoglobins die Gerinnung des filtrierten Plasmas mehr oder weniger energisch gehemmt, während das aus derselben Quelle stammende unreine Präglobulin sie beschleunigt und zugleich eine vermehrte Faserstoffausscheidung bewirkt. Dort überwiegen die gerinnungshemmenden, hier die gerinnungsauslösenden Kräfte.

Ich liess nun ferner auch eine 1 procentige Natronlösung auf den Zellenbrei 24 Stunden lang einwirken und filtrierte darauf. Das Filtrat war tiefdunkelbraun gefärbt. Dass es kein Cytoglobin mehr enthielt war selbstverständlich; aber auch Präglobulin fand sich darin nicht mehr vor, weil auch diese Zersetzungsstufe bei der langdauernden Einwirkung des Natrons schon überschritten war. In der Flüssigkeit war dafür ein Eiweisskörper enthalten, welcher durch Neutralisieren mit verdünnter Essigsäure gefällt wurde, in verdünnter Essigsäure leicht, in Essigsäure schwerer und in Kochsalzlösung unlöslich war und mit Essigsäure und Ferrocyankalium, ebenso beim Kochen mit Natriumsulfat und Essigsäure einen starken Niederschlag gab, also sich wie Alkalialbuminat verhielt. Wer kann aber hier entscheiden, was und wie viel zu diesem eiweissartigen Spaltungsprodukt, sowie zu den anderen in der Flüssigkeit enthaltenen Stoffen das Cytin oder das Cytoglobin hatten hergeben müssen. Dass das alkalische Wasserextrakt, wie sich schon an seiner gesättigten Farbe erkennen liess, viel reicher an zymoplastischen Substanzen ist, als das neutrale, ist nicht zu verwundern, da die Alkalien diese Substanzen lösen. Aus ihnen bestand deshalb auch der an Masse sehr bedeutende Verdampfungsrückstand des alkalischen Zellenextrakts; ausserdem enthielt er durch Wasser ausziehbare Stoffe und natürlich auch geronnenes Eiweiss.

Ich suchte mich nun auch genauer, als es bisher geschehen,

über die Veränderungen, welche das Cytin sowohl, als das Cytoglobin unter der Einwirkung von Säuren erleiden, zu orientieren und zwar betrachtete ich in dieser Hinsicht zuerst die reinen, aus den Lymphdrüsenzellen gewonnenen Stoffe getrennt von einander, dann die natürliche Combination beider, wie sie sich uns in dem nach andauernder Extraktion mit Alkohol zurückbleibenden Zellenrest darbietet, und endlich unterwarf ich auch die Vollzelle der Einwirkung der Säuren. Unter den Säuren wählte ich mir zu diesem Zweck die Essigsäure und die Salzsäure aus, beide kamen in zweierlei Weise zur Anwendung, als verdünntere und als concentriertere Lösungen.

A. Behandlung der reinen Stoffe mit Essigsäure und mit Salzsäure.

Die Säuren wurden sowohl als Zehntelnormallösungen, als auch als Normallösungen benutzt.

1) Das Cytoglobin.

a. Behandlung mit Essigsäure. In 0,3 gr. Cytoglobin wurden mit 15 Ccm. $^1/_{10}$ Normalessigsäure resp. mit 15 Ccm. Normalessigsäure verrieben und unter häufigem Umschütteln darin belassen; es blieb ein weisser, zu Boden sinkender Rest der Substanz in beiden Fällen zurück (Präglobulin). In den Filtraten war durch die gewöhnlichen Reagentien keine Spur von Eiweiss nachzuweisen; sie hinterliessen beim Eindampfen einen in Wasser sehr leicht, in Alkohol unlöslichen Rückstand.

Selbst die concentriertere Essigsäurelösung hatte hier also trotz dreitägiger Einwirkung nichts weiter bewirkt als die Zerlegung des Cytoglobins in das in der Säure unlösliche Präglobulin und das bekanute in Wasser lösliche Spaltungsprodukt, eine weitere Umwandlung des ersteren in eine lösliche Eiweissform, etwa in Acidalbumin, hatte also nicht stattgefunden. Dies stimmt mit meinen früheren Angaben überein, nach welchen das aus einer wässerigen Cytoglobinlösung mittelst verdünnter Essigsäure gefällte

Präglobulin auch in ganz concentrierter Essigsäure, wenigstens in der Kälte, unlöslich ist.

b. Behandlung mit Salzsäure. Es wurden 0,3 gr. Cytoglobin mit 15 Ccm. $^1/_{10}$ Normalsalzsäure verrieben, wobei wiederum nur ein Theil der Substanz sich auflöste, während der ungelöst bleibende Rest eine eigenthümliche Form annahm: es bildeten sich nämlich kleine, weisse Kügelchen, welche bei Druck elastisch wie Gummibälle erschienen. Nach 24 Stunden wurde filtriert. Das Filtrat drehte die Polarisationsebene um — 10 Minuten. Beim Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium entstand ein Niederschlag, ebenso beim Kochen mit Natriumsulfat und Essigsäure.

0,3 gr. Cytoglobin wurden mit 15 Ccm. Normalsalzsäure verrieben. Theilweise Auflösung. Der ungelöst bleibende Rest bildete aber nicht jene Kügelchen, sondern war breiartig. Nach 24 Stunden wurde filtriert. Das Filtrat drehte die Polarisationsebene um — 24 Minuten; es gab beim Kochen mit Natriumsulfat und Essigsäure eine starke Fällung, ebenso bei Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium. Bei der letzteren Reaktion färbte sich die Flüssigkeit schwach blau. Fügte man zu dem Filtrat Rhodonkalium hinzu, so entstand eine schwache Rothfärbung. Es war also auch etwas Eisen vom Cytoglobin in die concentriertere salzsaure Lösung übergegangen.

Den in beiden Fällen ungelöst gebliebenen Rest habe ich nicht weiter untersucht.

2) Das Cytin.

a. Behandlung mit Essigsäure. Je 0,3 Gr. Cytin wurden mit 15 Ccm. $^1/_{10}$ Normalessigsäure resp. mit 15 Ccm. Normalessigsäure verrieben; nach 3 Tagen vom massigen Cytinrückstand abfiltriert. In beiden farblosen Filtraten entstand beim Kochen mit Natriumsulfat und Essigsäure, ebenso beim Zusatz von Ferrocyankalium und Essigsäure eine Fällung, die jedoch unbedeutend war, ganz besonders in der mit der $^1/_{10}$ Normalessigsäure erhaltenen Lösung.

Es hat sich also in diesen Versuchen insofern ein Unterschied

zwischen dem Cytoglobin und dem Cytin herausgestellt, als die Essigsäure nicht von dem ersteren, wohl aber von dem letzteren geringe Mengen eines in die saure Lösung übergehenden Eiweisskörpers abgespalten hatte (Acidalbumin?).

b. Behandlung mit Salzsäure. Es wurden 0,5 Gr. Cytin mit 20 Ccm. $^1/_{10}$ Normalsalzsäure verrieben, wobei die Substanz sich theilweise löste, theilweise gallertartig aufquoll. Nach 24 Stunden wurde filtriert. Das farblose Filtrat drehte die Polarisationsebene nur um — 10 Minuten, gab aber mit Natriumsulfat und Essigsäure schon in der Kälte eine starke Fällung, ebenso mit Essigsäure und Ferrocyankalium.

0,6 Gr. Cytoglobin wurden mit 20 Ccm. Normalsalzsäure verrieben und nach 24 Stunden die Flüssigkeit vom aufgequollenen Rückstand abfiltriert. Das farblose Filtrat war optisch ganz inaktiv. Mit Natriumsulfat und Essigsäure keine Fällung, wohl aber mit Essigsäure und Ferrocyankalium; aber der bei dieser Reaktion entstandene Niederschlag schien fast nur aus Berlinerblau zu bestehen. Mit Natronlösung gekocht schied sich Eisenhydroxyd aus. Das Cytin ist jedenfalls sehr reich an Eisen, viel reicher als das Cytoglobin.

In beiden essigsauren Filtraten fand sich also vom Cytin abgespaltenes Eiweiss vor, von den salzsauren aber nur in dem verdünnteren, wie auch nur dieses eine Linksdrehung zeigte. Sollte nun die concentriertere Salzsäurelösung das vom Cytin abgespaltene Eiweiss nicht bis zur optischen Inaktivität und bis zum Versagen der gewöhnlichen Eiweissreaktion verändert haben?

B. Behandlung der nach 1monatlicher Extraktion mit Alkohol durch den Zellenrest dargestellten Combination von Cytin und Cytoglobin mit Essigsäure und Salzsäure.

Sowohl die hier anzuführenden als die mit den Vollzellen ausgeführten Versuche sollten ursprünglich anderen Zwecken dienen,

weshalb die Concentration der Säurelösungen nicht durchweg dieselbe ist wie in den bisher angeführten Versuchen.

a. Behandlung des Zellenrestes mit Essigsäure. 0,3 Gr. wurden mit 25 Ccm. $^1/_{20}$ Normalessigsäurelösung verrieben und nach 24 Stunden filtriert. Im farblosen Filtrat war keine Spur eines Eiweisskörpers enthalten; eingedampft blieb eine sehr geringe Menge einer gelblichen Masse zurück, aus welcher Alkohol Spuren von zymoplastischen Substanzen auszog, von welchen ja trotz der anhaltendsten Extraction mit Alkohol stets ein minimaler Rest in der Zelle zurückbleibt. Der nach dem Ausziehen mit Alkohol zurückbleibende Rest des Rückstandes löste sich leicht und vollständig in Wasser auf. Die hochgradig verdünnte Essigsäure hatte also das Cytin gar nicht angegriffen, wenigstens keine Eiweisssubstanz von ihm abgespalten; das Cytoglobin innerhalb des Zellenrestes hatte sie zwar gespalten, aber, wie vorauszusehen war, hatte sie dabei nur die in Wasser löslichen Spaltungsprodukte extrahiert, keine Spur von dem eiweissliefernden Produkt, dem Präglobulin. Die lange Dauer der Einwirkung hatte es aber auch zugleich mit sich gebracht, dass die Essigsäure trotz der grossen Verdünnung das Cytoglobin im Zellenrest nicht theilweise, sondern vollständig gespalten hatte. Beim Auswaschen der verdünnten Essigsäure aus dem Filterrückstand mit Wasser gieng nämlich keine Spur von Cytoglobin in das Filtrat über; selbstverständlich auch kein Präglobulin. Als ich nun aber nach beendetem Auswaschen mit Wasser den Filterrückstand mit 25 Ccm. $^1/_{20}$ Normalnatronlösung übergoss, erhielt ich ein Filtrat, welches reichliche Mengen von Präglobulin in alkalischer Lösung enthielt.

0,3 Gr. des Zellenrestes wurden mit 20 Ccm. einer 1procentigen Essigsäurelösung 24 Stunden lang extrahiert und dann filtriert. Das Filtrat enthielt die erwähnten in Wasser löslichen Spaltungsprodukte des Cytoglobins und wahrscheinlich wohl auch des Cytins und einen wie Acidalbumin sich verhaltenden Eiweisskörper. Nach den vorausgehenden Versuchen ist es wohl kaum zu bezweifeln,

dass das acidalbuminartige Spaltungsprodukt nicht von dem Cytoglobin, sondern vom Cytin abzuleiten ist.

b. Behandlung des Zellenrestes mit Salzsäure. 0,8 Gr. des Zellenrestes wurden mit 15 Ccm. $^1/_{10}$ Normalsalzsäurelösung verrieben und nach 24 Stunden filtriert. Das farblose Filtrat drehte die Polarisationsebene um — 25 Minuten. Mit Natriumsulfat und Essigsäure und ebenso mit Essigsäure und Ferrocyankalium gab es eine starke Fällung. Das Filtrat enthielt also einen acidalbuminähnlichen Eiweisskörper und es geht zugleich aus den Versuchen mit den reinen Stoffen mit grösster Wahrscheinlichkeit hervor, dass als Quellen desselben sowohl das Cytin als das Cytoglobin anzusehen sind.

Zu dem ergänzenden Versuch mit einer concentrierteren Salzsäurelösung bin ich nicht gekommen. Statt dessen habe ich die mit der $^1/_{10}$ Normalsalzsäure behandelte Probe nach beendetem Filtrieren noch einmal mit Normalsalzsäure verrieben und nach 24 Stunden filtriert. Das Filtrat war optisch inaktiv und enthielt kein nachweisbares Eiweiss. Beim Eindampfen blieb eine bräunliche, in Wasser lösliche Masse zurück.

C. Behandlung der Vollzelle mit Essigsäure und mit Salzsäurelösung, beide 1procentig.

Nach 24 Stunden filtriert. Das farblose Filtrat enthielt einen acidalbuminartigen Bestandtheil. Der sauer reagirende, beim salzsauren Auszug durch theilweise Verkohlung geschwärzte Verdampfungsrückstand enthielt die gewöhnlichen in Alkohol löslichen Zellenbestandtheile, aber viel weniger als der Rückstand des alkalischen Vollzellenauszugs; er enthielt ferner in Wasser lösliche Stoffe und endlich geronnenes Eiweiss. —

Diese Versuche zeigen, dass man keine Aussicht hat, die in der Zelle präformierten Atomcomplexe, insbesondere die eiweissliefernden, die Protoïde nach Hoppe-Seyler, durch Behandlung derselben mit chemisch differenten Mitteln, wie namentlich Säuren

und Alkalien, in unveränderter Gestalt darzustellen, mag man jene Mittel auch in der grössten Verdünnung anwenden; und wenn man an die physiologisch postulierte Labilität der wichtigsten präformierten Zellenbestandtheile denkt, so wird man auch nichts anderes erwarten.

Nur im Wasserextrakt der Zellen fanden wir noch das Cytoglobin, das doch, eben weil es aus ihnen durch Wasser aufgenommen worden, gewiss nicht ohne weiteres als ein chemisches Kunstprodukt angesehen werden kann und das ferner, da es auch nach vollständiger Extraktion der Zellen mit Alkohol ihnen durch Wasser entzogen wird, und zwar ganz in derselben Gestalt und mit ganz denselben Eigenschaften wie bei direkter Extraktion mit Wasser, offenbar durch den Alkohol nicht alteriert worden ist. In den alkalischen und sauren Zellenextrakten war das Cytoglobin nicht vorhanden und konnte es auch gar nicht sein, denn es unterlag ja bereits in der Zelle der Zerstörung. Das durch Zersetzung des Cytoglobins mittelst Alkalien entstehende Präglobulin scheidet sich, da es in Alkalien leicht löslich ist, nicht aus und sein Vorkommen im alkalischen Zellenextrakt wäre daher a priori anzunehmen; aber es vermag sich nur in den allerverdünntesten Alkalilösungen für längere Zeit als solches zu erhalten; concentrierte Alkalilösungen verwandeln es in kurzer, verdünnte in längerer Zeit in Albuminat. Nach 24stündiger Extraktion der Lymphdrüsenzellen mit einer 1procentigen Natronlösung fanden wir im filtrierten Extrakt demnach auch kein Präglobulin, sondern nur einen albuminatartigen Eiweisskörper vor. Verdünnte Säuren können das Präglobulin, das sie innerhalb der Zelle erzeugen, natürlich nicht extrahieren; concentriertere lösen es zwar auf, aber nur unter wesentlicher Veränderung seiner Substanz. So begegneten wir denn auch in den sauren Extrakten acidalbuminartigen Substanzen, jedenfalls Stoffen, welche, wie die in den alkalischen Extrakten befindlichen, in der Richtung des Abbaues der Eiweissstufe schon sehr nahe gerückt waren oder sie schon ganz erreicht

hatten; ja, bei Behandlung mit Normalsalzsäure war die Veränderung so weit gegangen, dass die gewöhnlichen Eiweissreagentien nicht mehr anschlugen.[1]) Nun ist es aber doch bis jetzt unmöglich zu sagen, welche von den in den sauren oder alkalischen Zellenextrakten befindlichen Zersetzungsprodukten etwa vom Cytoglobin, oder vom viel complicierteren Cytin oder von dem natürlichen Präglobin sich ableitet, oder welche allen dreien zugleich oder zweien von ihnen entstammen. Dazu kommt, dass nicht blos die zur Eiweissbildung dienlichen Zersetzungsprodukte jener präformierten Zellenbestandtheile, sondern auch die in Wasser löslichen in die Zellenextrakte übergehen und endlich sind noch die unvermeidlichen Beimengungen von zymoplastischen Substanzen zu berücksichtigen, die ihrerseits, wie wir gesehen haben, das Verhalten anderer Bestandtheile des Zellenextraktes beeinflussen; und die letzteren Beimengungen wird man, wenn sie einmal da sind, nicht so leicht wieder los. Es ist namentlich zu berücksichtigen, dass die im wässerigen Zellenextrakt neben Cytoglobin in reichlicher Menge enthaltenen zymoplastischen Substanzen durch das beim Ansäuern des Extraktes vom Cytoglobin abgespaltene Präglobulin nicht blos mechanisch mitniedergerissen werden, sondern dass Essigsäure einen Theil derselben auch direkt fällt.

Wer kann bis jetzt sagen, wie und in welcher Art bei der weiteren chemischen Bearbeitung eines solchen Gewirrs von Stoffen, dessen einzelne Bestandtheile, die grossentheils schon von vornherein Zersetzungsprodukte der präformierten Zellenbestandtheile darstellen, mitspielen, welche Combinationen resp. Gemenge dabei entstehen u. s. w.?

Von der Vorstellung ausgehend, dass die wichtigsten präformierten Bestandtheile der Zelle äusserst lebiler Art sein müssen

---

[1]) Vergl. J. Miescher: „Ueber die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen." Med.-chem. Untersuchungen von Hoppe-Seyler p. 456, 457.

und zugleich erwägend, dass die bisherige Zellenanalyse auf chemischen Eingriffen beruht, rein sie im Organismus gewiss nicht vorkommen, habe ich es versucht, die Zellen durch Mittel von der denkbar vollkommensten Indifferenz zu zerlegen. Meine Absicht war zunächst diejenigen Bestandtheile der Zellen zu isolieren, welche die Träger gewisser Wirkungen der letzteren sind, die ich sie bisher nur als intakte Organismen hatte ausüben sehen. Ich erreichte meinen Zweck, denn jene Wirkungen der ganzen Zelle, speciell ihre gerinnungserregende und, wie ich damals zugleich fand, ihre gerinnungshemmende Kraft, ferner ihre Fähigkeit Wasserstoffsuperoxyd stürmisch zu katalysieren, hafteten jetzt in verschiedener Vertheilung und zugleich in entschiedener Trennung an den einzelnen Produkten der Zerlegung; also hatte die Methode der Zellenanalyse keine wesentlichen Veränderungen der betreffenden Zellenbestandtheile bewirkt.

Wenn also die Aufgabe dahin geht, die Bestandtheile der Zelle in der Form, in welcher sie in ihr präformiert enthalten sind, von einander zu trennen, so halte ich mich für berechtigt anzunehmen, dass ich ihrer Lösung bis jetzt am nächsten gekommen bin, sowohl wegen der chemischen Indifferenz der von mir angewandten Zerlegungsmittel und der eben erwähnten Wiedererkennbarkeit gewisser Eigenschaften der ganzen Zelle an den verschiedenen Zerlegungsprodukten, als auch wegen der thatsächlich ausserordentlich ausgeprägten Zersetzlichkeit der letzteren, vermöge welcher sie, wie wir gesehen haben, schon durch die schwächsten der bisher angewandten chemischen Eingriffe zerspalten werden, ein Schicksal, welchem sie unter diesen Eingriffen ebensowohl innerhalb der Zelle unterliegen, wie ausserhalb.

Man kann mir entgegenhalten, es fehle der Beweis, dass nicht auch das Wasser, der Alkohol und die 10procentige Kochsalzlösung Spaltungen in der Zelle bewirken; gut, aber doch jedenfalls nicht so tiefgreifende wie die chemisch differenteren Mittel. Im übrigen mag es so sein, mag man schliesslich die Zelle als

ein einziges in stetem Auf- und Abbau begriffenes Riesenmolekül ansehen, das ausserdem nur noch die aufgenommenen Assimilationsstoffe und die auszuscheidenden Produkte seines Zerfalls vorübergehend in sich birgt, — jedenfalls gelangt man auf dem von mir eingeschlagenen Wege zu den nächsten oder doch näheren und nicht sogleich zu den entferntesten resp. entfernteren Spaltungsprodukten dieses Riesenmoleküls.

Auf die Arbeiten meiner Schüler W. Demme und A. Knüpffer, sowie auf meine eigenen mich stützend, habe ich es schon ausgesprochen, dass das Protoplasma keine eigentlichen Eiweissstoffe enthält.[1]) Am ehesten liesse sich der in sehr geringer Menge darin vorkommende in Kochsalz lösliche Körper, der offenbar ein natürliches Spaltungsprodukt des Cytoglobins darstellt, zu den Eiweissstoffen zählen. Er steht jedenfalls dem von mir künstlich erzeugten Spaltungsprodukt des Cytoglobins, dem Präglobulin sehr nahe, oder ist mit ihm identisch, in welchem Falle er also ein natürliches schon in der Zelle aus dem Cytoglobin entstandenes Präglobulin darstellt. Aber bei genauerer Betrachtung lässt er sich doch nicht in der Klasse der Eiweissstoffe unterbringen, sondern er gehört zu denjenigen Atomcomplexen, welche bei ihrer Zersetzung Eiweiss liefern. Beiden Stoffen, dem natürlichen, wie dem künstlichen Präglobulin, haftet ausserdem eine Eigenschaft ihrer Muttersubstanz an, die wir keinem der bisher bekannten Eiweissstoffe zuschreiben können, nämlich die, die Faserstoffgerinnung zu hemmen, eine Eigenschaft, von welcher ich gezeigt habe, dass sie einem im Cytoglobin enthaltenen nicht eiweissartigen Atomcomplex angehört, welcher bei der Spaltung des letzteren durch verdünnte Essigsäure verbunden mit dem Eiweisskern in das Präglobulin, bei der Spaltung durch Hitze aber, sich vom Eiweisskern trennend, in die in Wasser löslichen Spaltungsprodukte übergeht, ihnen ebenso wie im anderen

[1]) „Zur Blutlehre", p. 148 ff. p. 258.

Falle dem Präglobulin die gerinnungshemmende Wirksamkeit ertheilend. Von diesem eine Uebergangsstufe zu den Plasmaglobulinen, also ein intermediäres Produkt darstellenden und deshalb nur in geringer Menge in der Zelle vorkommenden Körper kann man eben nur sagen, dass er der Eiweissstufe näher steht, als seine Muttersubstanz, das Cytroglobin, wie dieses seinerseits derselben Stufe näher liegt, als das Cytin. Er gehört zu den in der Zelle enthaltenen Proteïden, aber gegenüber dem Cytoglobin und dem Cytin zu den bereits im Abbau weiter vorgeschrittenen Proteïden, zu den Proteïden relativ niederer Ordnung. Die der höheren und höchsten Ordnung sind das Cytoglobin und das Cytin. Das letztere halte ich für den wichtigsten Bestandtheil des Protoplasmas, für seine Gerüstsubstanz und deshalb zugleich für den Träger seiner hervorragendsten Lebensthätigkeiten, wie namentlich der Contraktilitäts- und Bewegungserscheinungen; denn diese sind nur denkbar unter der Annahme eines im Protoplasma enthaltenen festen von Flüssigkeit bis zum denkbar höchsten Grade durchweichten oder gequollenen Bestandtheils.

Wenn Kossel[1]) hervorhebt, dass während die Glykoside sich von ihren Spaltungsprodukten den Kohlehydraten und den Zuckerarten, durch ihre wesentlich anderen Eigenschaften beim ersten Anblick unterscheiden, die Proteïde bei oberflächlicher Betrachtung ohne weiteres als Eiweissstoffe erscheinen, so dass es oft sogar schwierig sei zu erkennen, ob ein Proteïd oder ein einfacher Eiweissstoff vorliege, so beruht diese Unterscheidung eben darauf, dass man es bis jetzt nur mit Proteïden niederer Ordnung, d. h. nur mit Zersetzungsprodukten der im Protoplasma enthaltenen Proteïde höherer und höchster Ordnung, den sog. Nukleïnen zu thun gehabt hat. Niemand wird eine Aehnlichkeit finden — und gar bis zur schwierigen Unterscheidbarkeit — zwischen den ein-

[1]) A. Kossel: Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin. Jahrgang 1892—93, No. I vom 21. October 1892, p. 1.

fachen Eiweissstoffen und dem rechtsdrehenden, aus seiner wässerigen Lösung durch Alkohol zwar fällbaren aber absolut nicht coagulierbaren, gerinnungshemmend wirkenden Cytoglobin oder gar dem noch complicierteren, als solches absolut unlöslichen, resp. ohne Zersetzung nicht in Lösung zu bringenden, bei einem gewissen Zersetzungsmodus Cytoglobin liefernden Cytin. In dieser Hinsicht besteht also zwischen den von mir aus dem Protoplasma gewonnenen Proteïden und den Eiweissstoffen als ihren Spaltungsprodukten ganz dasselbe Verhältniss, wie zwischen den Glykosiden und den Kohlehydraten.

Man sieht, so wenig wie für die Eiweissstoffe, so wenig finde ich im Protoplasma der Zellen, als selbständige Bestandtheile derselben, Platz für alles, was Nukleïn heisst. Oder sollen sie etwa unter die Alkoholextraktstoffe gerathen sein!

Wir können mit Sicherheit annehmen, dass gewisse uns schon bekannte Stoffe im Alkoholextrakt der Zellen enthalten sind, aber dass wir alle Bestandtheile des Extrakts kennen, dürfen wir doch gewiss nicht behaupten. Indem ich sie mit Beziehung auf eine Wirkung betrachtete, welche thatsächlich von der Gesammtheit dieser Stoffe ausgeübt wurde, habe ich sie unter der Bezeichnung „zymoplastische Substanzen“ zusammengefasst und ich habe niemals behauptet, dass alle im Alkoholextrakt der Zellen enthaltenen Stoffe zymoplastisch wirksam sind, sondern nur, dass alles zymoplastisch wirksame, was die Zelle enthält, in das Alkoholextrakt übergeht. Hieraus folgt, dass die gerinnungserregenden Bestandtheile der Zellen nichts mit den eiweissliefernden, den natürlichen Proteïden und deren Zersetzungsprodukten zu thun haben; diese wirken nur gerinnungshemmend. Ihre weiteren, Eiweiss enthaltenden Spaltungsprodukte können diese Eigenschaft nur verlieren und verlieren sie faktisch, aber sie können nie die entgegengesetzte erlangen; so verhält es sich auch mit dem auf natürlichem Wege von den Urstoffen in der Zelle abgeleiteten

Proteïden, den Globulinen, die man nahezu schon ganz als einfache Eiweissstoffe ansehen kann. Wenn nun aber ein durch künstliche Zersetzung hergestelltes Proteïd niederer Ordnung, ein sog. Nukleïn, gerinnungserregende Eigenschaften zeigt, so beweist das nur, dass das Material, aus welchem es hergestellt worden, von vornherein mit zymoplastischen Substanzen verunreinigt war.

Wenn ich auch der Meinung bin, dass man durch Behandlung der Zellen mit so differenten Mitteln, wie Salzsäure, Essigsäure, Natron, Siedhitze sich den Weg zu den näheren und nächsten Bestandtheilen derselben selbst zerstört, so bin ich doch weit davon entfernt, die Anwendbarkeit, ja die Nützlichkeit und Nothwendigkeit des chemischen Apparats zur Analyse der Zellen bis zu den letzten und einfachsten Produkten zu läugnen. Aber die erste Bedingung ist denn doch, dass man richtig anfängt, d. h. dass man die nächsten die Zelle constituirenden Atomcomplexe, soweit man ihrer habhaft werden kann, jede für sich der Analyse unterwirft und nicht zugleich mehrere auf einmal. Mit anderen Worten, man würde durch eine getrennte chemische Untersuchung des Cytins, des Cytoglobins, des natürlichen Präglobulins und der Bestandtheile des Alkoholextrakts der Zellen zu besseren Resultaten gelangen, als bisher, weil man eben bisher stets der ganzen Zelle mit den scharfen chemischen Untersuchungsmitteln zu Leibe gegangen ist.

Ich will bei dieser Gelegenheit einen Befund anführen, der, abgesehen davon, dass das Verfahren mittelst dessen ich zu ihm gelangt bin, das Ebengesagte bestätigt, auch an sich von Interesse ist. Anthen fand nämlich in einem unter mehreren Fällen, dass das wässerige Extrakt der Leberzellen Glycogen enthielt. Wenn das auch bei den beiden Kalbslebern, aus welchen ich meinen Vorrath an Lebercytin und Lebercytoglobin gewonnen hatte, der Fall gewesen, so war anzunehmen, dass dem letzteren Glycogen anhange, denn dasselbe müsste nach beendeter Extraktion der

Leberzellen mit Alkohol zugleich mit dem Cytoglobin in das Wasserextrakt übergehen; beide Stoffe zusammen wurden dann durch den absoluten Alkohol gefällt und mussten dann auch nebeneinander in der Trockensubstanz enthalten sein. Beim Lebercytin war eine solche Verunreinigung offenbar viel weniger zu befürchten, denn nach Gewinnung der vorher bestimmten Menge des Wasserextrakts, wird zur Entfernung des in der Zelle zurückbleibenden Restes von Cytoglobin der Filterrückstand noch längere Zeit mit Wasser ausgewaschen; dann folgt das Waschen mit 10procentiger Kochsalzlösung zur Gewinnung des natürlichen Präglobulins und jetzt beginnt das letzte, oft viele Stunden andauernde Waschen mit Wasser zur Entfernung der letzten Spuren des Kochsalzes. Was nun nach einer zweiten gründlichen Extraktion mit Alkohol auf dem Filtrum übrig bleibt, ist das Cytin und es ist wohl kaum glaublich, dass ihm nach solcher Behandlung noch Glycogen anhaften sollte. Dennoch prüfte ich meinen Vorrath an Lebercytin in dieser Hinsicht, indem ich eine feinpulverisierte Probe desselben mit Wasser verrieb, kochte, filtrierte und das Filtrat untersuchte. Es fand sich keine Spur von Glycogen darin vor, wie ja überhaupt, gemäss meinen früheren Erfahrungen, die Cytine keine Spur von Substanz an kochendes Wasser abgeben.

Nun wurde auch von Lebercytoglobin eine Probe in Wasser gelöst; da aber diese Lösung beim Kochen nur theilweise coaguliert wird und zu befürchten stand, dass der in Lösung bleibende Rest die Zuckerreaktionen stören dürfte, so wurde der wässerigen Cytoglobinlösung eine mässige Menge concentrierter Kochsalzlösung zugesetzt, welche die völlige Coagulierung der Substanz beim Kochen herbeiführte. Aber auch hier liess sich im Filtrat nach Zusatz von Speichel keine Spur von Glycogen nachweisen. Die Zellen der beiden Lebern, aus welchen ich meinen Vorrath an Lebercytin und Lebercytroglobin bezogen hatte, waren also sicherlich glycogenfrei gewesen.

Jetzt kochte ich etwa $^1/_2$ gr. fein pulverisierten Cytins mit

40 Ccm. 1 procentiger Schwefelsäurelösung, aber nur etwa 25 Minuten lang, wobei sich ein grosser Theil der Substanz auflöste, dann filtrierte ich, neutralisierte das Filtrat mit Bariumcarbonat, filtrierte wieder, fügte zum Filtrat absoluten Alkohol in grossem Ueberschuss hinzu, wobei Eiweiss flockig ausgeschieden wurde. Jetzt filtrierte ich nochmals, dampfte das alkoholische Filtrat zur Trockne ein und löste den Rückstand in Wasser auf. Diese wässerige Lösung gab die Zuckerreaktion nach Trommer nicht; als ich sie aber mit etwas Speichel bis 35° C. erwärmt hatte, schlug die Reaktion ganz vortrefflich ein. Das Lebercytoglobin, auf die gleiche Weise behandelt, gab ganz dasselbe Resultat. Die entsprechenden Versuche mit dem Cytin und Cytoglobin von Lymphdrüsenzellen führten zu vollständig negativen Ergebnissen.

Soweit war ich gekommen, als ich erkrankte. Ich übergab nun mein Material dem Herrn Mag. pharm. van der Bellen mit der Bitte die Untersuchung fortzuführen und insbesondere darauf zu achten, ob nicht bei länger dauerndem Kochen mit Schwefelsäure sich fertiger Zucker abspalten lässt. Herr van der Bellen willfahrte freundlichst meiner Bitte und ich will jetzt über seine Versuche nach den mir übergebenen Notizen berichten.

Herr van der Bellen verrieb zunächst 1 gr. im Achatmörser fein pulverisierten Lebercytins mit 100 Ccm. Wasser und kochte das Gemenge 6 Stunden lang auf freiem Feuer im Kölbchen mit Rückflusskühler. Ebenso verfuhr er mit einer wässerigen mit Kochsalz versetzten Cytoglobinlösung. In den beiden mit Speichel versetzten Filtraten liess sich auch nach 6 Stunden kein Zucker nachweisen. Hierdurch wurde also mein Befund, dass weder dem Lebercytin noch dem Lebercytoglobin Glycogen anhaftete, bestätigt.

Das mit Wasser gekochte Lebercytin wurde nun mit 0,2procentiger Schwefelsäurelösung 6 Stunden lang gekocht, filtriert, darauf mit kohlensaurem Baryt abgestumpft, filtriert, darauf mit dem dreifachen Volum Alkohol gemischt, abermals filtriert und

die alkoholische Flüssigkeit zur Trockne eingedampft. Der Rückstand, mit Wasser aufgenommen, gab die Zuckerreaktion nach Trommer, Böttger und mit Phenylhydrazin. Ganz ebenso liess sich auch vom Lebercytoglobin durch beständiges Kochen mit 2 procentiger Schwefelsäure Zucker abspalten. Die Versuche mit dem Cytin und dem Cytoglobin der Lymphdrüsenzellen aber führten zu vollständig negativen Ergebnissen.

Ich bin nicht dazu gekommen festzustellen, ob der zuckerbildende Körper, welcher sich nach kurzdauerndem Kochen mit 1 procentiger Schwefelsäure vom Lebercytin sowohl als dem Lebercytoglobin abgespalten hatte, gewöhnliches Leberglycogen war, aber ich halte es für sehr wahrscheinlich.

Wenn ich zu diesen Versuchen die intakten Leberzellen verwandt hätte, so hätte das präcise Eintreffen der Zuckerreaktion zu keinem anderen Schluss berechtigt, als dass diese Zellenart einen zuckerbildenden Bestandttheil enthält und damit wäre nichts neues gesagt gewesen: ja der Schluss wäre sogar für den vorliegenden Fall ein falscher gewesen, insofern als die Leberzellen, aus welchen das zu dem obigen Versuchen benutzte Material stammte, sicher ganz glycogenfrei waren. Jetzt wissen wir aber, dass der zuckerbildende Atomcomplex einen integrierenden Bestandtheil des Lebercytins sowohl als des Lebercytoglobins bildet und das scheint mir in Bezug auf die Frage der Glycogenbildung in der Leber von grosser Bedeutung zu sein. —

Ich will jetzt die Anschauungen über die Zellen, insbesondere über die eigentlichen Protoplasmazellen und solche, welche ihnen, wie die Leberzellen, nahestehen, zu welchen meine Untersuchungen mich geführt haben, kurz zusammenfassen:

1. Die Zellen enthalten keine wahren Eiweissstoffe, sondern nur Proteïde.

2. Die in den Zellen enthaltenen Proteïde sind zugleich die

Urproteïde: es sind das Cytin, Cytoglobin und das natürliche Präglobulin, welche sich in derselben Reihenfolge von einander ableiten: unter ihnen spielt also das Cytin die Rolle des obersten Proteïds.

3. Das Cytin, das Cytoglobin und vielleicht auch das natürliche Präglobulin der Leberzelle sind zugleich Glykoside, also mit einem Wort Urglykokosidoproteïde.

4. Die bisher dargestellten Nukleïne sind weiter abgeleitete, auf chemischem Kunstwege erzeugte Proteïde, deren Vorkommen im Organismus nicht nachgewiesen ist. In den Zellen sind sie als solche sicher nicht enthalten; in den Körperflüssigkeiten könnten einzelne derselben höchstens nur als rasch verschwindende Zwischenprodukte der Umsetzung gedacht werden.

5. Die auf natürlichem Wege, und zwar innerhalb des Säftekreislaufs abgeleiteten Proteïde sind die Globuline, welchen der in ihnen weit überwiegende Eiweisskern schon in hohem Grade seine Eigenschaften aufprägt. Erst der Faserstoff stellt einen ganz einfachen Eiweissstoff dar.

6. In den Urproteïden ist kein gerinnungserregender, sondern nur ein gerinnungshemmender Atomcomplex enthalten, welcher im Säftekreislauf von ihnen abgespalten wird, so dass die hier befindlichen, auf natürlichem Wege abgeleiteten Proteïde, die Globuline, seiner entbehren.

7. Dieser gerinnungshemmende Atomcomplex lässt sich auch auf künstlichem Wege, namentlich durch Erhitzen von ihnen abspalten, ohne seine specifischen Eigenschaften dabei zu verlieren.

8. Die Träger der gerinnungserregenden Kräfte der Zellen sind ihre in Alkohol löslichen Bestandttheile, von denen viele auch zugleich in Wasser löslich sind.

9. Wenn demnach an einem auf irgend eine Weise dargestellten Nukleïn, als an einem abgeleiteten Proteïd, gerinnungserregende Eigenschaften bemerkt werden, so kann das nur daran liegen, dass

die Methode der Darstellung eine Verunreinigung mit zymoplastischen Substanzen mit sich brachte.

10. Die Alkoholextraktstoffe der Zelle sind nicht das Zymogen des Thrombins, sondern ihre Wirkung besteht in der Spaltung des wahren Zymogens, des Prothrombins (vielleicht besser Thrombinogens), welches seinerseits gleichfalls ein Zellenprodukt ist. —

Ich habe mich weder früher noch jetzt über die Frage ausgelassen, welcher Art etwa die morphologische Vertheilung der Urproteïde in der Zelle seien, weil ich in der That nichts gewisses darüber sagen kann. Da ich das Cytoglobin nur in den kernhaltigen nicht aber in den kernlosen rothen Blutkörperchen gefunden habe, so ist der Schluss, dass es aus den Kernen stammt, leicht gemacht. Aber die Ausbeute an Cytoglobin aus den kernhaltigen rothen Blutkörperchen des Huhnes war doch, verglichen mit den Leucocyten, sehr gering,[1]) und da der Zellenleib der kernhaltigen rothen Blutkörperchen doch eine andere Zusammensetzung zu haben scheint als das kernlose Säugethierblutkörperchen, so erscheint es ebenso denkbar, dass bei dem Entwickelungsprocess, durch welchen aus dem ursprünglichen Protoplasma Hämoglobin erzeugt wurde, ein Rest des Cytoglobins als Bestandtheil des Zellenleibes erhalten blieb. Gegen die Möglichkeit, dass das Cytoglobin auch in den Zellkernen vorkommt, habe ich nichts einzuwenden, aber ganz aus ihm bestehen sie gewiss nicht, dazu haben sie sich in einzelnen ihrer Bestandtheile als zu widerstandsfähig erwiesen; ich brauche in dieser Hinsicht nur auf F. Miescher's bekannte Untersuchung der Kerne hinzuweisen.

Eine viel widerstandsfähigere Substanz als das Cytoglobin finden wir nun im Cytin. Aber es ist doch auch nicht denkbar, weder dass der ganze Kern aus Cytin besteht, noch dass alles Cytin der Zelle im Kern steckt. Was bliebe im letzteren Falle übrig, um

[1]) „Zur Blutlehre" p. 136—139.

die Contraktilätserscheinungen des Protoplasmas möglich erscheinen zu lassen?

Ich komme jetzt auf die Alkoholextraktstoffe der Zelle. Rauschenbach gewann nach dem Verfahren von Semmer die Stromata der rothen Blutkörperchen des Huhnes, indem er sie zu wiederholten Malen mit grossen Mengen kohlensäurereichen Wassers, welches ihnen das Hämoglobin vollständig entzieht, wusch. Die entfärbten Blutkörperchenreste wirken auf passende Reaktionsflüssigkeiten, wie z. B. auf filtriertes Blutplasma, mächtig gerinnungserzeugend; nach Lilienfeld sollen sie aber fast nur aus den Kernen der Stromata mit einem ihnen anhängenden faserigen Gebilde bestehen.[1]) Ich habe diese Angabe Lilienfeld's nicht weiter controliert, nehme sie aber für richtig an. Nun lässt aber das Alkoholextrakt dieser Blutkörperchenreste beim Eindampfen einen gelbbraunen, klebrigen Rückstand zurück, welcher sich beim Versuch als in hohem Grade zymoplastisch wirksam erweist. Hiernach würden also die Kerne der rothen Hühnerblutkörperchen zymoplastische Substanzen enthalten. Nun habe ich aber gefunden, dass die kernlosen rothen Blutkörperchen des Pferdes und Rindes, in gleicher Weise mit kohlensäurereichem Wasser behandelt, ebenfalls vollkommen vom Hämoglobin befreit werden, und schliesslich einen weissgrauen Bodensatz von kleinen blassen Kügelchen geben. Dies können aber doch nun keine Kerne, sondern nur Stromata sein. Das Alkoholextrakt dieser Stromata enthält aber wiederum reichliche Mengen zymoplastisch wirksamer Substanzen. Stellen nun die rothen Blutkörperchen des Pferdes kernlose Zellen dar, so wird durch diesen Befund das Vorkommen von zymoplastischen Substanzen in den Zellen auch unabhängig von den Kernen bewiesen. Und warum sollte eine Substanzgruppe, die z. B. bei den Lymphdrüsenzellen bis 37 % ihres Gesammttrockenrückstandes betragen kann, nur in den Zellkernen enthalten sein?[2])

[1]) Du Bois-Reymond's Archiv, Jahrgang 1892, Heft 1 und 2, p. 146.

[2]) W. Demme a. a. O. p. 17. — A. Schmidt. Zur Blutlehre p. 135.

Mir scheint der Gedanke sehr nahe zu liegen, dass solche scharfe Trennungen in der Zelle gar nicht existieren, dass das Cytin sowohl wie das Cytoglobin, vielleicht in sehr verschiedener Vertheilung und in sehr verschiedenem Grade der Festweichheit im Zellenleib wie im Zellkern vorkommen, indem das erstere hier wie dort die feste Gerüstsubstanz bildet. Und wenn man sich nun vorstellt, dass auch die zur Gruppe der Alkoholextraktstoffe gehörigen Substanzen sich gleichfalls in verschiedener Weise über Zellenleib und Zellkern vertheilen, so dass die einen hier, die andern dort ihren Platz finden, wie verschieden können sich da die physikalischen und chemischen Eigenschaften der beiden morphologischen Hauptbestandtheile der Zelle gestalten. Welche Combinationen und welche vielleicht sehr lockere chemische Zusammenhänge könnten dabei vorkommen, und wenn wir an Bunsen's Erklärung der Katalyse des Wasserstoffsuperoxyds durch Platin denken, welche Dissociationen könnten eintreten, wenn vielleicht auch in der Zelle gewisse lockere Verbindungen in der Anziehungssphäre einer dritten Substanz nicht bestehen können!

Für die in der Zelle vor sich gehenden Spaltungen kommt aber noch ein anderes, sehr wesentliches Moment in Betracht, das ist die alkalische Reaktion der sie umspülenden Blut- und Körperflüssigkeit. Wir haben gesehen, dass dieses Moment eine Bedingung sine qua non für die Umsetzung von Zellen in Blutbestandtheile ist. Nur bei alkalischer Reaktion des Blutserums und der Transsudate fanden die Umsetzungen in ihnen statt, durch welche aus dem Cytoglobulin resp. aus dem Präglobulin Paraglobulin wurde. Schon diese Thatsache allein stempelt die Alkalescenz der Körperflüssigkeiten zu einem ungeheuer wichtigen Faktor für die Stoffwechselvorgänge; und wer kann behaupten, dass sie nicht auch für die Schicksale der anderen neben den proteïdartigen Verbindungen entstehenden Spaltungsprodukte der Zellenderivate von maassgebender Bedeutung ist. Und wenn wir

weiter gesehen haben, dass unter dem Einfluss geringer aber andauernd wirkender alkalischer Kräfte auch die wesentlichsten Zellenbestandtheile aus einander abgeleitet werden, dass auf diese Weise experimentell aus dem Cytin Cytoglobin und aus diesem weiter eine Substanz dargestellt werden kann (das Präglobulin), welche in allen wesentlichen Punkten mit dem in Kochsalz löslichen Zellenbestandtheil übereinstimmt, so liegt doch gewiss der Gedanke sehr nahe, dass die Körperflüssigkeiten vermöge derselben alkalischen Eigenschaften auch den lebendigen Zellen zu Leibe gehen und hier bei den Stoffwechselvorgängen mitwirken, in welchen ihr Leben, von materieller Seite betrachtet, besteht.

Viel heftiger gerinnungserzeugend als die Leukocyten und die Stromata resp. die Kerne der rothen Blutkörperchen wirken nach Rauschenbach die Spermatozoën. Nun habe ich den bezüglichen Versuch zwar nicht angestellt, aber ich bin a priori davon überzeugt, dass die Spermatozoën sehr reich an alkohollöslichen Stoffen sind; dafür spricht schon ihr grosser Phosphorgehalt, ausserdem ist ja auch Lecithin schon in ihnen nachgewiesen worden [1]).

Lilienfeld bestätigt die Angaben Rauschenbach's über die gerinnungserregende Wirksamkeit der von ihnen in dieser Hinsicht geprüften Formelemente und leitet sie von ihrem Nucleïngehalt ab. Eine Stütze für diese Annahme findet er zugleich in

[1]) Aus Fischeiern (frischem, sehr schwach gesalzenem Kaviar) habe ich sehr bedeutende Mengen von zymoplastisch wirksamen Stoffen mit Alkohol extrahiert. Der Kaviar wurde zur Entfernung des Kochsalzes zuerst mit wenig Wasser angerührt und filtriert. Dann wurden die Eier durch Verreiben mit Glaspulver zerstört und die dicke Emulsion 8 Tage lang mit Aether entfettet, wobei ich den Aether täglich erneuerte. Jetzt erst begann die Extraktion mit Alkohol. Nach Beendigung derselben extrahierte ich aus dem getrockneten und fein pulverisierten Rückstand mit Wasser nicht unbeträchtliche Mengen von Cytoglobin. Beim Waschen mit Wasser behufs ihrer Entsalzung mögen übrigens die Eier einen Verlust an dieser Substanz erlitten haben.

den so hervorragend gerinnungserregenden Eigenschaften der Spermatozoën, denn diese seien eben ausserordentlich nucleïnreiche Gebilde. Wenn ich demgegenüber behaupte, dass diese Eigenschaften von den alkohollöslichen, zymoplastisch wirkenden Bestandtheilen des Protoplasmas aller jener Cellulargebilde abhängen, so trete ich damit von meinem Standpunkt aus eigentlich in keinen Widerspruch mit Lilienfeld; denn ich bin eben überzeugt, dass das, was er hier Nucleïn nennt, in irgend einer Form zymoplastisch wirkende Atomcomplexe enthält. Ich entziehe den Zellen ihre gerinnungserregenden Bestandtheile mit Alkohol; bei einem Nucleïn im Sinne einer proteïdartigen Verbindung erscheint das doch nicht möglich.

Es ist hier der Ort, auf die interessanten die Faserstoffgerinnung betreffenden mikroskopischen Befunde von L. Lilienfeld[1]) und von G. Hauser mit einigen Worten einzugehen[2]). Beide weisen sichtbare lokale Beziehungen zwischen der Faserstoffausscheidung und den farblosen Blutkörperchen nach. Lilienfeld fixierte das in einem auf dem Objektträger geronnenen Blutstropfen entstandene Fibrinnetz, nachdem er es mit einem Wasserstrahl von den rothen Blutkörperchen vollständig freigewaschen hatte, mit Herrmann'scher Lösung, färbte und trocknete das Präparat an der Luft und schloss es in Kanadaxylol ein. Er fand, dass die Fibrinfäden sich ausser an den Blutplättchen an die Kerne der Leukocyten festsetzen, welche dabei eine randständige Lagerung einnehmen. Sehr viele von diesen mit Fibrinfäden verknüpften Zellkerne treten dabei ganz aus den Zellen heraus, welche im weiteren Verlauf der Gerinnung zerfallen, so dass man schliesslich sehr viele nackte Leukocytenkerne zu Gesicht bekommt. Die Blutplättchen sieht er für Derivate des Zellkerns der Leukocyten an.

[1]) Du Bois-Reymond's Archiv, Jahrg. 1892, Heft 1 u. 2, p. 167, 168.

[2]) Deutsches Archiv für klinische Medicin, Bd 50, p. 363—380.

Hauser beobachtete ganz etwas ähnliches bei der mikroskopischen Untersuchung eines in Alkohol gehärteten Stückchens des in Folge einer Rachendiphtherie entzündlich infiltrierten Gewebes aus der weiteren Umgebung der linken Tonsille. Er fand in den nach der Weigert'schen Methode nachbehandelten Schnitten ein zierliches, engmaschiges, die erweiterten Spalträume des entzündlich infiltrierten Gewebes ganz ausfüllendes, auch die Primitivbündel der angrenzenden Muskeln, sowie die Träubchen des benachbarten Fettgewebes umspinnendes Fibrinnetz, in welchem ausserordentlich zahlreiche Knotenpunkte sich bemerkbar machten. Bei stärkerer Vergrösserung erkannte er, dass diese Knotenpunkte aus einer sehr dichten, in ihrer Mitte stets eine absterbende oder abgestorbene Zelle einschliessenden Fibrinablagerung bestand, die sich peripherisch in nach allen Seiten hin radiär ausstrahlende, mit dem Fibrinnetz in unmittelbarer Verbindung stehende, zarte Fibrinfäden auflöste. Diese Knotenpunkte verdienen demnach als wahre „Gerinnungscentren" bezeichnet zu werden. Nicht selten hatten diese Centren sich auch um Kernreste gebildet, in anderen Fällen um kleinere corpusculäre Elemente, die Hauser als Schollen zerfallener Zellen deutet. Ebenso liessen sich diese den abgestorbenen farblosen Blutkörperchen aufgelagerten radiär ausstrahlenden Gerinnungscentren auch in dem das Gefässlumen ausfüllenden Fibrinnetz kleiner, thrombosierter Gefässe des entzündlich infiltrierten Halszellgewebes nachweisen. Aber nicht nur um farblose Blutkörperchen und deren Kerne hatten sich solche Gerinnungscentren gebildet, sondern ebenso auch um junge Bindegewebszellen, um zersprengte Russel'sche Körperchen und, was von besonderem Interesse ist, auch die innere Gefässwand selbst fand Hauser mit einer dünnen Fibrinlage bedeckt, von welcher zarte Fibrinfäden nach dem Lumen hin ausstrahlten, wobei das Endothel der Gefässwand zum grössten Theil deutlich degeneriert erschien.

Hauser fand diesen Befund bestätigt in einem zweiten Falle von Diphtherie, ferner bei fibrinöser Pleuritis, dann innerhalb der

Hautgefässe in einem Falle von Erysipelas gangranosum und endlich in dem thrombosierten Gefässstämmchen eines weissen Niereninfarkts. Er bezieht sich ferner auf die mit den seinigen übereinstimmenden Beobachtungen K. Zenker's in einem Falle von Influenzapneumonie und er führt schliesslich sehr überzeugende Gründe an, weshalb man diesen Gerinnungscentren nicht überall und in jedem Fall von fibrinöser Entzündung oder von Thrombinbildung begegnet, Gründe, welche meiner Ansicht nach auch für die gewöhnliche Faserstoffgerinnung Geltung haben. Auf eine genauere Wiedergabe der Beobachtungen von Hauser muss ich verzichten, indem ich auf die Originalarbeit verweise. Die Frage von dem Wesen und der Bedeutung der Blutplättchen für die Faserstoffgerinnung lassen seine Untersuchungen übrigens unberührt.

Desto entschiedener spricht sich Lilienfeld über diese Gebilde aus, indem er sie für Derivate des Zellkerns der Leukocyten erklärt. Sollte sich diese Annahme bestätigen, so kann mir das nur sehr erfreulich sein, denn ich habe nie an dem Zusammenhange der Blutplättchen mit den farblosen Blutkörperchen und deshalb auch nie an der Möglichkeit ihrer Mitwirkung bei der Faserstoffgerinnung gezweifelt. Mit vielen meiner Schüler habe ich seit langer Zeit stets die Ansicht vertreten, dass es auch einen physiologischen Leukocytenzerfall innerhalb der Blutbahn giebt, auf welchem der Gehalt des Blutes an Blutplättchen beruht; besonders in den Arbeiten von Rauschenbach und von Groth ist dieser Gedanke, der sich auf unsere Beobachtungen in Betreff des Schicksals des in die Blutbahn eines Thieres injicierter Zellen stützte, vielfach besprochen worden. Wir konnten damals die Blutplättchen nur ganz im allgemeinen als Zerfallprodukte der Leukocyten auffassen und wenn Lilienfeld sie seinen Beobachtungen gemäss für Fragmente freigewordener Leukocytenkerne erklärt, so habe ich durchaus keinen Grund zum Widerspruch, denn dann

sind sie eben auch Zerfallprodukte der Zellen. Ich möchte aber doch dem Gedanken Ausdruck geben, dass vielleicht die ganz kleinen unter diesen Körnchenbildungen, welche namentlich in Pferdeblutplasma in so grosser Menge vorkommen, als zerfallene Gerüstsubstanz der Zellen (Cytin) zu betrachten sind. Sollten nicht auch die feinkörnigen Massen, welche den aus gewöhnlichem, d. h. nicht filtriertem Plasma gewonnenen Faserstoff durchsetzen, wenigstens zum Theil aus demselben Material bestehen?

Wenn Lilienfeld nun, in Anknüpfung an seinen erwähnten mikroskopischen Befund und an seine Auffassung der Blutplättchen als Derivate des Zellkerns der Leukocyten die Faserstoffgerinnung für eine Funktion eben dieser Leukocytenkerne erklärt, so wird er zu den letzteren nicht blos diejenigen der farblosen Blutkörperchen, auf welche allein seine mikroskopischen Befunde Bezug nehmen, sondern ebenso auch die Kerne anderer Leukocyten zählen, da er ja den Angaben Rauschenbach's, dass auch Eiterzellen, Lymphdrüsenzellen u. s. w. ganz wie die farblosen Blutkörperchen selbst auf das Plasma wirken, zustimmt. Hauser hat solche Verknüpfungen der Fibrinfäden mit den Zellkernen, wie sowohl aus dem Text seiner Arbeit als auch aus beigegebenen Abbildungen hervorgeht, nicht beobachtet; das Filzwerk von Fibrinfäden umhüllt nur die Zelle von aussen. Vielleicht waren die Verbindungen mit den Kernen in dem Stadium, in welchem die Untersuchung stattfand, bereits zerrissen, vielleicht machte es auch einen Unterschied für die lokalen Beziehungen des ausgeschiedenen Faserstoffs zu den Zellen, dass die Bedingungen der Gerinnung in den Hauser'schen Fällen andere waren, als in dem von Lilienfeld. Warum sollte es nicht auch möglich sein, dass dort die nach Lilienfeld aus den Kernen hervortretende Substanz, welche die Entstehung der Fibrinfäden veranlasst, sich zunächst im Zellenleibe aufgespeichert hat, um dann, von hier aus nach allen Seiten ausstrahlend, jenes Filzwerk von Fibrinfäden zu erzeugen. Doch

ist das nur eine Vermuthung[1]); eine unzweifelhafte Lösung dieses in den Angaben beider Forscher hervortretenden Widerspruchs vermag ich nicht zu geben. Ich bedarf ihrer für das, was ich in Folgendem zu sagen habe, aber auch nicht; es genügt für meine Zwecke vollständig der Nachweis, dass die Fibrinfäden in lokaler Beziehung zu den Zellen stehen, ob bis zum Kern hin oder nicht, ist mir zunächst gleichgültig.

Nun ist doch die erste Frage, in welcher Art von Abhängigkeit die Faserstoffbildung zu den absterbenden Zellen resp. deren Kernen steht. Dass ihnen die gerinnungsfähigen Substanzen selbst entstrahlen sollten, ist von vorneherein auszuschliessen; diese sind in der die Zellen umspülenden plasmatischen Flüssigkeit enthalten und haben sich hier in Folge der der Gerinnung vorausgegangenen Wechselbeziehung zwischen Körperflüssigkeit und Körperzellen aufgespeichert. Die Zellen enthalten keine Globuline, aber theoretisch liesse sich denken, dass sie den Gehalt des Plasmas an diesen Eiweissstoffen um ein Geringes vergrösserten, indem nämlich das bei ihrem Absterben etwa austretende Cytoglobin sich sehr rasch bis zur Globulinstufe entwickelt, wie wir es ja bei den künstlichen mit dieser Substanz angestellten Gerinnungsversuchen gesehen haben. Aber dieser Zuwachs an gerinnungsfähiger Substanz könnte wegen der geringen durch die farblosen Blutkörperchen repräsentierten Masse doch nur sehr gering sein.

Hauser nimmt an, dass das beim Absterben der Zelle freiwerdende und aus ihr austretende Thrombin die Ursache jener fädigen Gerinnungen in Plasmen sei. Das Ferment entstände demnach schon innerhalb der Zelle. Nun enthält die letztere zwar sowohl zymoplastische Substanzen als Prothrombin, aber sie wirken hier kaum aufeinander. Rauschenbach fand zwar, dass in den

[1]) Hierher gehört auch der bekannte von Löwit bei der Gerinnung des Krebsblutes beobachtete und als plasmatische bezeichnete Vorgang, bei welchem Protoplasmatheilchen in Form von allerfeinsten Fäden und Körnchen aus den farblosen Blutkörperchen in das gerinnende Plasma austreten.

Lymphdrüsenzellen freies Thrombin sich entwickelte, aber nur sehr langsam und in sehr geringen Mengen. Ausserdem würde das Thrombin als ein sehr leicht löslicher Körper sich im Plasma doch wohl diffus verbreiten und die Folge wäre keine fädige, sondern eine homogene Faserstoffausscheidung, wie wir sie sehr schön im filtrierten Plasma, ebenso im filtrierten verdünnten und mit einem Thrombinzusatz versehenen Salzplasma auftreten sehen. Lässt man einen Tropfen dieser Flüssigkeiten unter dem Deckgläschen gerinnen, so sieht man nie Fäden, Streifen oder dergleichen auftreten, sondern der Faserstoff scheidet sich in Form einer durchsichtigen homogenen Membran aus, die oft nur dadurch erkennbar wird, dass sie bei Verschiebungen des Deckgläschens Falten bildet.

Meiner Meinung nach sind es die zähflüssigen, im Vergleich mit dem Thrombin schwer löslichen zymoplastischen Substanzen, welche in feinen Stromesfäden von der Zelle oder dem Zellkern in das Plasma ausstrahlend auf ihrer Bahn die sofortige Thrombinentwickelung herbeiführen und auf diese Weise jene Fibrinfäden in den Anfangsstadien der Gerinnung entstehen lassen. In den späteren Stadien wird sich ihre Wirkung resp. die des von ihnen freigemachten Ferments wohl mehr diffus über das Plasma vertheilen und dadurch eine weitere Ausscheidung des Faserstoffs in homogenen Massen bedingen, wie das sehr gut in der Arbeit von Hauser entwickelt ist. Sollten die Fibrinfäden gemäss der Angabe von Lilienfeld schon von den Kernen ausgehen, so würde das auf ein Eindringen von Plasma in die absterbende Zelle hinweisen.

Dies führt mich zu einer wie mir scheint durchaus plausiblen Erklärung der Art und Weise, wie die farblosen Blutkörperchen bei der Gerinnung mitspielen, eine Frage, die ich im ersten Theil dieser Arbeit unbeantwortet lassen musste. Ich sagte dort: „Die farblosen Blutkörperchen sind nicht die alleinige Ursache der Blut-

gerinnung, sondern sie beschleunigen in eminentem Grade durch eine erst extra corpus von ihnen ausgehende Wirkung einen bereits im Gange befindlichen Process, welcher auch ohne sie in dem vom Organismus getrennten Blute mit der Faserstoffausscheidung abschliessen würde".[1])

Diese Beschleunigung ist nun aber in der That eine ausserordentliche. Wenn das gut filtrierte Plasma bei Zimmertemperatur 24 Stunden und mehr, ja, wie es mir auch vorgekommen ist, sogar drei Tage Zeit braucht, um erschöpfend zu gerinnen, so sehen wir denselben Endeffekt beim nicht filtrierten Plasma, auch wenn man es bei demselben Grade der Abkühlung wie das filtrierte der Zimmertemperatur aussetzt, meist schon im Laufe einer halben bis dreiviertel Stunde und oft noch schneller eintreten, und was hier die farblosen Blutkörperchen leisten, das bewirkt man auch durch einen Zusatz von Lymphdrüsen-, von Eiterzellen u. s. w. zum filtrierten Plasma.

Die nächstliegende Erklärung dieser gewaltigen Wirkung der Zellen lag in der Annahme, dass aus ihnen während ihres Absterbens ein Strom von zymoplastischen Substanzen in das Plasma übergeht. Dann müsste aber das Serum des nicht filtrierten Plasmas reicher an zymoplastischen Substanzen sein als dasjenige des filtrierten oder als das filtrierte Plasma selbst. Ich habe nun die Mengen dieser aus den genannten drei Flüssigkeiten durch gründliche Extraktion mit Alkohol gewonnenen Substanzen durch Wägung zu bestimmen gesucht, bin aber dabei durchaus nicht auf irgendwelche bemerkenswerthe Unterschiede gestossen. Nun ist zwar die Bestimmung dieser schwer vollkommen zu extrahierenden, klebrigen Substanzen durch Wägung mit Unsicherheiten behaftet, aber andererseits müssten, sollte man denken, den grossen Unterschieden in den Gerinnungszeiten des zellenhaltigen und des zellenfreien Plasmas auch entsprechende Unterschiede im Gehalt

[1]) „Zur Blutlehre" p. 260.

der betreffenden Flüssigkeiten an zymoplastischen Substanzen entsprechen, die dann wohl auch kaum der Bestimmung durch die Wage entgehen dürften. Diese Annahme erscheint umsomehr berechtigt, als man, um dem filtrierten Plasma dieselbe hochgradige Gerinnungstendenz zu ertheilen, die das normale zellenhaltige besitzt, zu durchaus wägbaren Massen von zymoplastischen Substanzen greifen muss. Unter solchen Umständen blieb mir die Art und Weise der Mitwirkung der farblosen Blutkörperchen bei der Blutgerinnung zunächst noch ein Räthsel.

Aber man kann, wie mir jetzt scheint, dieses Räthsel lösen, ohne von der Idee, dass es sich doch um einen Austritt von zymoplastischen Substanzen in das Plasma handelt, abzugehen. Es fragt sich nur, was man unter diesem Ausdruck zu verstehen hat. Ich habe die ganze Gruppe der Alkoholextraktstoffe der Zellen sowohl als der Körperflüssigkeiten als zymoplastische Substanzen bezeichnet, bin aber nie der Meinung gewesen, dass alle Bestandtheile dieser Gruppe auch wirklich zymoplastisch wirksam sind. Von einzelnen kann ich schon bestimmt sagen, dass sie sich in dieser Hinsicht durchaus indifferent verhalten.

Nun lässt sich aber doch denken, dass von der ganzen Gruppe der Alkoholextraktstoffe nur ein kleiner Bruchtheil zymoplastisch wirksam ist, wiederum eine Gruppe von Stoffen, die klein sowohl an Anzahl wie an Masse ist, oder dass sie, was mir weniger wahrscheinlich erscheint, nur einen einzigen zymoplastisch wirksamen Bestandtheil enthält, dem dann auch allein die Bezeichnung zymoplastische Substanz zukäme. Die specifische Wirkung dieser Substanz oder dieser Gruppe von Substanzen besteht in der Abspaltung des Thrombins von seinem Mutterstoff. Um solche Spaltungen zu bewirken, bedarf es aber doch im allgemeinen nicht grosser Massen an spaltender Substanz. Freilich kann man, so lange man nur mit der Gesammtheit der Alkoholextraktstoffe zu experimentieren in der Lage ist, grössere Gerinnungseffekte auch nur durch Zusatz grösserer Massen dieser Substanzgruppe

erzielen, während doch die mit ihnen in die Gerinnungsflüssigkeit gebrachten zymoplastisch wirksamen Massen vielleicht sehr gering sind.

In dem filtrierten Plasma kann der Vorgang der Fermentabspaltung nur durch die in der Flüssigkeit bereits aufgelösten, aus dem Kreislauf stammenden zymoplastischen Substanzen herbeigeführt werden; diese sind aber gewiss nicht mehr das, was sie waren, als sie ihre Bildungsheerde die Zellen verliessen; denn sie sind mittlerweile den im Kreislauf wirkenden, regulierenden, abschwächenden und zerstörenden Kräften ausgesetzt gewesen, durch welche ihre Quantität oder ihre Wirksamkeit auf ein ständig sehr niedriges Niveau hinabgedrückt sein dürfte, worin die äusserst schleppende Fermententwickelung im filtrierten Plasma und dessen ebenso schleppende Gerinnung ihre Erklärung findet.

Nun überlege man sich aber, wie die Sache sich anders gestalten muss, wenn diese an sich mit einer so äusserst geringen Gerinnungstendenz begabte Flüssigkeit unter gewöhnlichen Bedingungen, d. h. bei Gegenwart aller ihr angehörigen Leukocyten der Gerinnung überlassen bleibt und wenn nun die untergehenden Zellen ihre eigentlich zymoplastisch wirksamen Bestandtheile in das in dieser Hinsicht sehr reducierte Blutplasma austreten lassen. Diese sind nicht den Stoffwechselvorgängen im Kreislauf ausgesetzt gewesen, sondern kommen gewissermassen ganz frisch aus der Zelle und sie gelangen in eine Flüssigkeit, welche den im lebenden Organismus wirkenden hemmenden und regulierenden Wirkungen vollständig entzogen ist. So werden die mächtigsten Gerinnungseffekte der Zellen verständlich.

Bei dieser Betrachtungsweise ist der negative Erfolg des Versuchs, über die Art und Weise der Mitwirkung der farblosen Elemente bei der Blutgerinnung durch Wägungen in's Klare zu kommen, ohne Bedeutung. Die nächstliegende Idee, dass nämlich die absterbenden Leukocyten durch Ausstossung von zymoplastisch wirkenden Substanzen die Gerinnung des Plasma so ausserordent-

lich beschleunigen, ist und bleibt meiner Ueberzeugung nach doch auch die allein richtige. —

Ich wende mich schliesslich noch ein paar anderen Fragen zu, welche einerseits das Prothrombin und andererseits die bei Einführung in die Blutbahn hervortretenden verderblichen Wirkungen des Cytoglobins und des Präglobulins betreffen.

Ich habe in meiner ersten Mittheilung gesagt, dass die Prothrombinmengen, welche bei der natürlichen Blutgerinnung durch die zymoplastischen Substanzen gespalten werden, gleichsam nur einen abgesplitterten Bruchtheil des Gesammtvorraths darstellen.[1]) Die dabei freigemachten Fermentmengen sind gering gegenüber denjenigen, welche theoretisch von dem Prothrombin geliefert werden; dennoch reichen sie hin, um den im Säftekreislauf bereits vorbereiteten Akt der Gerinnung einzuleiten und mit verhältnissmässig grosser Geschwindigkeit zum Abschluss zu bringen. Den Grund für diese Beschränkung der Prothrombinspaltung fand ich in der schon im Kreislauf stattfindenden Aufspeicherung von spaltungshemmenden Kräften in Folge der hier ununterbrochen vor sich gehenden, das Prothrombin selbst betreffenden Spaltungsvorgänge. Die spaltungshemmenden Stoffe aber diffundieren leicht durch vegetabilisches Pergament. Bringt man also nach beendeter Blutgerinnung das Serum auf den Dialysator, so befreit man es nicht blos von den bei diesem Process entstandenen, sondern auch von den schon aus dem Kreislauf stammenden hemmenden Stoffen, und es ist deshalb sehr begreiflich, dass sich im dialysierten Blutserum unvergleichlich grössere Thrombinmengen durch die gewöhnlichen Mittel abspalten lassen, als bei der spontanen Gerinnung des Blutes frei werden. Hiernach beruhte auch die in Folge der Transfusion von Zellen eintretende Gerinnungsunfähigkeit des Blutes auf einer abnormen, über die physiologischen Grenzen hinaus-

[1]) „Zur Blutlehre" p. 205—212.

gehenden Aufhäufung von spaltungshemmenden Stoffen und das nächstliegende Mittel, um durch Entfernung derselben die Gerinnung wieder hervorzurufen, bestand in der Dialyse. Ich habe bereits ein paar solche von S. Kroeger[1]) und mir[2]) mit Erfolg angestellte Versuche veröffentlicht, aber wegen ihrer geringen Anzahl empfand ich das Bedürfniss nach Wiederholung. Zudem wünschte ich einen höheren Grad von Gerinnungsunfähigkeit, als uns damals herbeizuführen gelang, zu erreichen. Man hat aber hier wegen der sehr verschiedenen Widerstandskraft der Thiere den Erfolg der Transfusion nicht in seiner Gewalt. Ein Zuviel wird leicht durch plötzliche Thrombinbildung tödtlich, was die Gewinnung der zu den Versuchen erforderlichen Blutmenge erschwert und, indem man deshalb bei der Injektion Vorsicht walten lässt, thut man häufig zu wenig.

v. zur Mühlen[3]) machte die Erfahrung, dass im Plasma sogar bei extremen Graden von Ungerinnbarkeit die Gerinnbarkeit durch die Dialyse hervorgerufen werden konnte, was während des Stadiums der Wiederkehr der spontanen Gerinnbarkeit besonders eclatant war. Hier trat stets durch die Dialyse die Gerinnungsfähigkeit soweit wieder ein, dass ein Zusatz von 0,8 % NaCl genügte, um die Gerinnungszeit um viele Stunden bis Tage zu verkürzen.

Je grösser der Vorrath des Plasmas an gerinnungshemmenden Substanzen war, um so länger dauernder Dialyse bedurfte es, um sie zu entfernen, wobei die Flüssigkeit natürlich immer salzärmer wurde.

Sehr grosse Mengen der die Prothrombinspaltung hemmenden

---

[1]) S. Kroeger. Ein Beitrag zur Physiologie des Blutes. Inaug.-Abh. Dorpat 1892, p. 30—39.

[2]) „Zur Blutlehre“ p. 233—235.

[3]) R. von zur Mühlen. Ueber die Gerinnungsunfähigkeit des Blutes. Inaug.-Abh. Dorpat 1894.

Stoffe aber brachten es mit sich, dass der Salzgehalt des Plasmas sich erschöpfte, bevor es von ihnen in hinreichendem Grade befreit war und wenn die hemmenden Stoffe den Salzen auch schliesslich nachfolgten, so konnte doch nun von einer Gerinnung, ohne dass der Verlust an Salzen ersetzt wurde, nicht mehr die Rede sein.

Eigentlich hat schon Rauschenbach in seinen bereits erwähnten Wasserextrakten von Lymphdrüsenzellen das Prothrombin in Händen gehabt, ebenso wie das der Fall mit dem Cytoglobin war; denn wenn er den aus Lymphdrüsen ausgepressten sehr dicken und durch Verrühren mit destilliertem Wasser oder mit einer 0,5 procentigen Kochsalzlösung in einen dünnen verwandelten Zellenbrei nicht sogleich, sondern erst nach einiger Zeit, am besten nach 24 Stunden, filtrierte, so zeigte das Filtrat Thrombinwirkungen. Es führte die Gerinnung proplastischer Transsudate herbei und wirkte demgemäss auch auf das verdünnte Magnesiumsulfatplasma viel intensiver als das unmittelbar nach dem Verrühren mit Wasser oder Kochsalzlösung erhaltene Filtrat. Das Auftreten des Thrombins in Rauschenbach's Wasserextrakten beweist nun aber, dass auch Prothrombin in ihnen enthalten war; er fand ihre Reaktion schwach alkalisch, ein Umstand, der die Spaltung des Prothrombins durch die zymoplastischen Substanzen sehr befördert. In den wenigen von mir angestellten Prüfungen konnte ich die alkalische Reaktion nicht jedesmal mit Sicherheit constatieren, die langsame Thrombinentwickelung fand aber immer statt, da die Alkalescenz für sie ja nur ein begünstigender, aber kein nothwendiger Faktor ist. Liess Rauschenbach den ausgepressten Zellenbrei 24 Stunden stehen, verrührte ihn dann mit Wasser und filtrierte sofort, so erhielt er ein thrombinhaltiges Wasserextrakt. Die Spaltung des Prothrombins war also auch in der nicht mit Wasser oder verdünnter Kochsalzlösung behandelten Zelle eingetreten. Ein kurzes Erwärmen beförderte sehr die Thrombinentwickelung u. s. w.[1]) —

[1]) Rauschenbach, a. a. p. 26—30.

v. Rennenkampff und Kollmann constatierten die giftige Wirkung des Cytoglobins und des Präglobulins bei Injection in die Blutbahn. Diese Stoffe wurden besonders gefährlich, wenn ihre Transfusion mit Blutentziehungen, auch mit relativ unbedeutenden, verbunden war. In solchen Fällen genügten 0,5—0,10 Gr. pro Kilo des Thieres (Katzen), um den Tod oder doch schwere Erkrankung desselben herbeizuführen. Lässt man den Thieren ihren gesammten Blutvorrath, so ist, um dieselben Erscheinungen hervorzurufen, eine zwei- bis viermal grössere Quantität erforderlich. Und bei alledem zeigt das Blut selbst sich nach solchen Transfusionen nur in sehr unwesentlicher oder auch in gar nicht wahrnehmbarer Weise verändert. In ähnlicher, wenn auch nicht so intensiver Weise wirkte auch das Paraglobulin nach den Erfahrungen von S. Kroeger gesundheitsschädigend.[1])

Woher diese verderblichen Wirkungen? Serum- oder Eialbumin darf man den Thieren grammweise beibringen, ohne ihnen dadurch einen wesentlichen Schaden zuzufügen. Mir scheint diese Erfahrung verständlich, wenn wir jene Substanzen als die besonderen Stoffwechselprodukte der Körperzellen auffassen und die Zellen zugleich mit dem ganzen Organismus vergleichen. Nennen wir uns selbst einen Mikrokosmos, so ist die Zelle in uns ein Mikro-Mikrokosmos und ihre Welt ist die mit der Blutflüssigkeit zusammenhängende Körperflüssigkeit, in welcher sie schwimmt. Auch für uns sind unsere Stoffwechselprodukte Gifte, Ptomaïne, und wir würden bald an ihnen zu Grunde gehen, wenn die uns umgebende Natur nicht für uns sorgte, indem sie keine Aufspeicherung derselben gestattet, sondern sie aufnimmt, sie mannigfach metamorphosiert und schliesslich in anderer uns Nutzen bringender Gestalt uns wieder darbietet. Hier muss ein Gleichgewicht zwischen Zu- und Abfuhr bestehen, dessen Störung sich an den Zellen wie

[1]) Eine zusammenfassende Darstellung der Befunde von v. Rennenkampff, Kolbe und Kroeger in „Zur Blutlehre“ p. 245—256.

am Organismus rächt. Allen Uebergängen zwischen Zellen- und Flüssigkeitsbestandtheilen nachzugehen, wird vielleicht nie möglich sein: denn es handelt sich hier um minimale Grössen. Wie gross ist denn der Kohlensäuregehalt der Atmosphäre und würde man aus ihm ohne weiteres auf die Massen dieses Gases schliessen können, die täglich und stündlich aus den Organismen der Thiere in die der Pflanzen übergehen? Man kommt mit seinen Gedanken nicht weiter, sobald man sich die eiweisshaltigen Körperflüssigkeiten, das eigentliche Ernährungsfluidum, als rein passiv und nicht vielmehr in hohem Grade aktiv, als etwas, worin vielerlei geschieht, vorstellt.[1]) Aber diese Flüssigkeit durchtränkt eben den ganzen Organismus und von ihr ist die im Gefässsysteme befindliche nur ein Theil. Es ist die Garküche dieser Welt mit Zu- und Abfuhrswegen und mit sehr vielen fleissigen Köchen darin. Und dieser Theil gewinnt noch eine besondere Bedeutung dadurch, dass er neben den chemischen zugleich mechanische Aufgaben erfüllt: denn von einer äusseren Kraft bewegt, treibt er seinerseits die Flüssigkeitsmasse, welcher er angehört, beständig im Körper umher, wie der kleine, durch Muskelaktion bewegte Schwanztheil des Fisches die viel grössere Masse des mit ihm zusammenhängenden, an sich ruhenden Körpers im Wasser fortschiebt.

[1]) Schon Rauschenbach sagt a. a. O. p. 73: „Das Plasma aber ist allein für sich ein höchst besonderer Saft; er ist aktiv und kein indifferenter Träger der Blutkörperchen, kein blosses Nahrungsmagazin für die Organe und Gewebe des Körpers."

Anhang.

Das aus verschiedenen Organen desselben Individuums stammende Cytoglobin ist nicht durchweg identisch, sondern zeigt quantitative Unterschiede seiner Eigenschaften, so namentlich in seiner Zersetzlichkeit und in seiner Wirkung auf Wasserstoffsuperoxyd. Bei genauerer Untersuchung werden wohl noch weitere Unterschiede sich herausstellen. Man kann also von Cytoglobinen reden, wie man von Hämoglobinen redet. Es erscheint aber auch möglich, dass das Cytoglobin eines und desselben Organs je nach der Thierspecies quantitative Unterschiede seiner Eigenschaften aufweist. Solche Differenzen könnten ja auch die giftige Wirkung des Cytoglobins betreffen und sie könnten vielleicht mehr oder weniger mit einer anderen Differenz, z. B. mit seiner grösseren oder geringeren Zersetzlichkeit zusammenhängen. Es hat sich mir der Gedanke aufgedrängt, dass vielleicht auch das Schlangengift nichts anderes ist als eine besonders giftige Cytoglobinart, aber alle meine Bemühungen, mir dasselbe zu verschaffen, sind erfolglos gewesen. So wünsche ich, dass anderen, die sich in dazu günstigerer Lage befinden, diese Frage in die Hand nehmen. Die Entscheidung darüber, ob man es beim Schlangengift mit einer besonderen Cytoglobinart zu thun hat, ist nach meinen Angaben sehr leicht zu finden und erfordert äusserst wenig Material. Ich kann mir nicht vorstellen, dass von zwei zoologisch einander nahe verwandten Thierspecies der Organismus der einen plötzlich eine ganz specifische Giftfabrik darstellt. Es würde sich vielleicht auch lohnen, das

Cytoglobin anderer Organe der giftigen sowohl als der nicht giftigen Schlangen zu untersuchen. Wer weiss denn, ob nicht auch das Cytoglobin unserer Speicheldrüsenzellen mehr oder weniger verderblich in der Blutbahn wirken würde. Intravaskuläre Injektionen von Speichel sollen ja nicht ohne üble Folgen bleiben. Die kleinen Mengen von „Eiweiss", die man im Speichel findet, sind sicher Cytoglobin oder Präglobulin. Aber der Speichel wird ausgespieen oder er gelangt in den Magen und Darm, wo er unschädlich gemacht wird. Auch das Schlangengift soll bei Applikation per os harmlos sein. Da das Cytoglobin sich in der Blutflüssigkeit in Paraglobulin, also in einen normalen Blutbestandtheil umsetzt und diese Umsetzung durch mässige Erhöhung ihrer Alkalescenz beschleunigt wird, so kam mir der Gedanke, ob man nicht versuchen sollte, dem Blute von Thieren, welchen man Schlangengift beigebracht hat, kohlensaures Natron auf irgend einem Wege zuzuführen. Freilich trübt die Erfahrung, dass auch ein plötzlicher Zuwachs an Paraglobulin schädlich wirkt, die Aussicht auf Erfolg. Ausserdem arbeitet man vielleicht, indem man eine Beschleunigung des Umsatzes bewirkt, der Reaktion des Organismus entgegen. Wenigstens lehrt die Erfahrung, dass die Umwandlung des in die Blutbahn gebrachten Cytoglobins in Paraglobulin durch Widerstände, die hier entstehen, beträchtlich verlangsamt wird verglichen mit der extra corpus vor sich gehenden.[1])

[1]) „Zur Blutlehre" p. 251, 252.

COLUMBIA UNIVERSITY LIBRARY

This book is due on the date indicated below, or at the expiration of a definite period after the date of borrowing, as provided by the rules of the Library or by special arrangement with the Librarian in charge.

DATE BORROWED	DATE DUE	DATE BORROWED	DATE DUE
	MAY 27 '40		

C28(239)M100

QP91 Sch52

Schmidt

Weitere beiträge zur blutlehre.

MAR 8 1944